ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. VII No. 2

1 9 5 8

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
20 JUL 1959

PRZEPISY AUTORSKIE

Jako materiał publikacyjny mogą być nadsyłane rozprawy i komunikaty dotyczące prac oryginalnych z dziedziny mikrobiologii ogólnej, rolniczej i przemysłowej, nigdzie dotychczas nie publikowane, a referowane uprzednio na posiedzeniu Oddziału Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów lub innego towarzystwa naukowego. Czasopismo zamieszcza również referaty przeglądowe.

Jednostronne maszynopisy o podwójnych odstępach, z marginesem 4 cm należy przesyłać w 2 egz. na ręce sekretarza: Redakcja *„Acta Microbiologica Polonica"*, Wrocław, ul. Siemieńskiego 14/8.

Do prac pisanych po polsku należy dołączyć streszczenie rosyjskie, angielskie, francuskie lub niemieckie. Streszczenia powinny zawierać zasadnicze konkluzje pracy i nie powinny przekraczać 15% tekstu. Prace w obcym języku (rosyjski, angielski, francuski lub niemiecki) mogą być nadsyłane po uprzednim porozumieniu się z redakcją; należy do nich dołączyć streszczenie polskie. Każda praca powinna być zaopatrzona w tytuł w języku publikacji oraz streszczenia, nazwisko i inicjały autora (ów), nazwę i adres zakładu, w którym wykonano pracę.

Pożądany jest następujący układ prac: a) krótki wstęp, b) metody badania, c) wyniki, d) dyskusja i wnioski, e) krótkie streszczenie w języku polskim — nie więcej niż 3% tekstu, f) piśmiennictwo, g) streszczenie obcojęzyczne.

Prace należy ujmować treściwie, wstęp powinien zawierać tylko dane bezpośrednio odnoszące się do opracowanego tematu; metody należy opisać krótko: tam gdzie to możliwe powoływać się na oryginalne opisy metod.

Wyniki mogą być ilustrowane tablicami i wykresami, należy jednak unikać tablic i wykresów dla przedstawienia tych samych danych. Wykresy i tablice powinny być możliwie przejrzyste i nieskomplikowane i ilustrować zasadnicze, istotne wyniki. Rysunki i wykresy można dostarczać w czytelnych szkicach ołówkowych na brystolu, każdy na oddzielnej kartce, zaopatrzonej na odwrocie w wypisane ołówkiem: tytuł pracy, nazwisko autora oraz numer rysunku lub wykresu. Objaśnienia do rysunków i wykresów należy dołączyć na osobnej kartce z wyraźnym zaznaczeniem numeru rysunku (wykresu). W objaśnieniach należy podawać skalę lub wielokrotność powiększenia. Fotografie powinny być kontrastowe, na matowym papierze. Ilość tablic i rysunków musi być ograniczona do minimum.

W maszynopisie należy zaznaczyć miejsce, w którym ma być umieszczony rysunek (wykres, fotografia).

Przy powoływaniu się na piśmiennictwo należy podać nazwiska autorów i rok publikacji, np. Prażmowski (1879) lub (Prażmowski 1879). Jeżeli praca cytuje więcej niż jedną publikację danego autora z tego samego roku, należy to uwidocznić dodając małe litery (np. 1887 a, 1887 b itd.).

Wykaz cytowanych prac (piśmiennictwo) powinien być sporządzony w układzie alfabetycznym i powinien zawierać następujące elementy: nazwisko i inicjały autora (ów), kropka, rok, kropka, tytuł pracy, nazwa czasopisma w przyjętych skrótach, tom (ewentualnie zeszyt), stronica czasopisma; w wypadku cytowania książki: nazwisko i inicjały autora (ów), rok wydania, tytuł książki, wydanie, miejsce i wydawca, ewentualnie stronica tekstu.

W tekście i tablicach należy stosować przyjęte skróty, np. ml — a nie ccm, g — a nie gr, 100° — a nie 100°C, M — molarny, N — normalny itd.

Przy opisie roztworów należy rozróżnić „%" — g na 100 g roztworu, „% objętościowy" — ml na 100 ml roztworu, „stężenie procentowe" — g na 100 ml rozpuszczalnika.

Nazwy drobnoustrojów należy podawać w brzmieniu łacińskim, przy pierwszym wzmiankowaniu — w pełnym brzmieniu. Dopuszczalne jest również jednoczesne podawanie przyjętych ogólnie nazw polskich. W dalszym tekście nazwy rodzajowe (nie gatunkowe) należy skracać lub podawać tylko nazwy polskie.

Autor otrzymuje 25 odbitek bezpłatnie; o dodatkowe odbitki autor może zwrócić się do redakcji przy składaniu maszynopisu.

Członkowie Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów otrzymują „Acta" bezpłatnie, po przekazaniu dodatkowej składki rocznej w wysokości 70,— zł do Sekcji Mikrobiologii Ogólnej PTM (adres: Redakcja *„Acta Microbiologica Polonica"*, Wrocław, ul. Siemieńskiego 14, m. 8).

POLSKIE TOWARZYSTWO MIKROBIOLOGÓW
SEKCJA MIKROBIOLOGII OGÓLNEJ, ROLNICZEJ I PRZEMYSŁOWEJ

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. VII No 2

1958
PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE

RADA REDAKCYJNA

Przewodniczący: Jadwiga Ziemięcka, członek rzeczywisty PAN — Lublin, Kazimierz Bassalik, członek rzeczywisty PAN — Warszawa, Józef Heller, członek-korespondent PAN — Warszawa, Jadwiga Jakubowska — Łódź, Aniela Kozłowska — Kraków, Władysław Kunicki-Goldfinger — Wrocław, Eugeniusz Pijanowski, członek-korespondent PAN — Warszawa, Feliks Przesmycki — Warszawa

KOMITET REDAKCYJNY

Redaktor naczelny — Władysław Kunicki-Goldfinger
Dział ogólny — Z. Lorkiewicz, Lublin
Dział rolny — J. Gołębiowska, Poznań
Dział przemysłowy — J. Jakubowska, Łódź

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE — WROCŁAW 1959

Nakład 1108+132 egz.	*Oddano do składania 1. VI. 1958 r.*
Ark. wyd. 8, druk. 6,25	*Podpisano do druku 17. I. 1959 r.*
Pap. druk. sat. kl. III, 80 g+kreda 90 g	*Druk ukończono w styczniu 1959 r.*
Cena zł 25.—	*Zam. nr 89/58 — P-2*

WROCŁAWSKA DRUKARNIA NAUKOWA

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA
1958, 7, 97—104

R. Pakuła, W. Walczak, Z. Fluder i *K. Zakrzewski*

WARUNKI ŚRODOWISKOWE TRANSFORMACJI DWOINEK ZAPALENIA PŁUC

ROLA ALBUMINY

Z Zakładu Bakteriologii Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Wpłynęło dnia 23 kwietnia 1958 r.

Transformacje dwoinek zapalenia płuc zachodzą w określonych warunkach środowiskowych. Dawson i Sia (1931), którzy pierwsi uzyskali transformację *in vitro*, stwierdzili, że dla uzyskania transformacji typów dwoinek zapalenia płuc podłoże, prócz czynnika transformującego, powinno zawierać normalną surowicę, surowicę odpornościową anty-*R* lub krew.

Od tego czasu w badaniach nad transformacją typów dwoinek zapalenia płuc, dwoinek zapalenia opon mózgowych oraz pałeczek z gatunku *Hemophilus influenzae* stosowano podłoża płynne z dodatkiem surowicy, płynu z jamy opłucnowej lub otrzewnowej.

Zgodnie z opinią Mc Carty, Taylor i Averyego (1946) rola surowicy i wymienionych płynów w transformacji nie polega na wzbogacaniu podłoża, ponieważ dwoinki zapalenia płuc nie ulegają transformacji w podłożach bez surowicy, zawierających wszystkie składniki niezbędne dla obfitego wzrostu.

Zdaniem wspomnianych autorów w surowicy obecne są co najmniej trzy składniki odgrywające rolę w transformacji. Są to: 1) substancja ulegająca dializie, dająca się zastąpić przez pyrofosforany lub neopepton, 2) przeciwciała anty-*R* powodujące aglutynację bezotoczkowych dwoinek zapalenia płuc i 3) czynnik białkowy odrębny od przeciwciał anty-*R*.

Hotchkiss i Ephrussi-Taylor (1951) w badaniach nad transformacją typów dwoinek zapalenia płuc wykazali, iż ten ostatni składnik można zastąpić albuminą surowicy ludzkiej lub bydlęcej.

Mc Carty i współpracownicy (1946 b) nie wyrażają zdecydowanej opinii, co do rzeczywistej niezbędności w reakcji transformacji przeciwciał anty-*R*. Przypuszczają, iż przeciwciała te przez skupienie bakterii

powodują, być może, pośrednio miejscowe obniżenie potencjału oksydo-redukcyjnego, sprzyjające reakcji transformacji.

W okresie późniejszym, gdy w reakcjach transformacji jako cechę genetyczną zastosowano oporność na leki, okazało się, iż transformacje dwoinek zapalenia płuc w kierunku oporności na streptomycynę zachodzą również w podłożach, do których dodano tylko albuminę (Thomas, 1955, Schaeffer, 1956).

Badania nasze wykazały jednak, że nie wszystkie preparaty albuminy surowicy ludzkiej lub zwierzęcej mogą zastąpić surowicę lub płyny ustrojowe w reakcji transformacji. W podłożach, do których dodano niektóre preparaty albuminy, nie udało się, mimo wielokrotnie powtarzanych prób, ani razu uzyskać reakcji transformacji. Celem ujawnienia związku między wartością określonego preparatu albuminy dla transformacji a jego składem chemicznym poddano wszystkie preparaty analizie elektroforetycznej. Uzyskane wyniki wskazują, iż jednorodne pod względem elektroforetycznym preparaty albuminy surowicy ludzkiej i bydlęcej są nieczynne w transformacji. Wydaje się, że poza albuminą pewną rolę w omawianym odczynie odgrywają globuliny.

MATERIAŁ I METODY

Szczepy. Jako biorcę stosowano w poniższych badaniach bezotoczkowy szczep dwoinek zapalenia płuc *R36A*. Dawcą czynnika transformującego był mutant tego szczepu oporny na 2000 γ/ml streptomycyny.

Podłoże. Transformacja zachodziła w podłożu trzykrotnie adsorbowanym węglem aktywowanym. Zawierało ono oprócz wyciągu mięsnego, neopepton, wyciąg drożdży oraz 0,025% glikozy.

Czynnik transformujący. Dla otrzymania tego czynnika zastosowano metodę ekstrakcji *DNA* opisaną przez Pakułę i Tyca (1956). W uzyskanych preparatach stwierdzono obecność *DNA* wiskozymetrycznie przy użyciu dezoksyrybonukleazy krystalicznej. Ilościowo zawartość kwasu oznaczono metodą Stumpfa (1947) oraz na podstawie adsorpcji w ultrafiolecie przy długości fali 2540 Å w spektrofotometrze Hilgera.

Preparaty albuminy. Preparaty albuminy użyte w niniejszych badaniach otrzymano: a) z mieszaniny plazmy uzyskanej od kilkuset dawców krwi — preparaty Nr 1 i 2; b) z plazmy bydlęcej cytrynianowej — preparat Nr 3; c) z mieszaniny surowicy łożyskowej uzyskanej od kilkuset położnic — preparat Nr 4. Preparaty Nr 1, 3 i 4 otrzymano według metody Cohna Nr 6 (Edsall, 1947). Preparat Nr 2 wytrącono z płynu nad osadem (IV — 1 metoda Nr 6) przez doprowadzenie do *pH* 4,8 za pomocą 0,1 N kwasu octowego i zwiększenie stężenia etanolu do 25%. Wszystkie preparaty poddano natychmiast liofilizacji i w tym stanie przechowano je do momentu użycia.

Analizy elektroforetyczne wymienionych frakcji wykonano w standardowej komorze Tiseliusa (84 mm), w białym świetle w temperaturze 2,5°. Suche preparaty albuminy rozpuszczano w buforze weronalowym przy *pH* 8,6 o sile jonowej

0,1 i dializowano wobec tego samego buforu przez kilka dni. Przed próbą elektroforetyczną doprowadzono stężenie albuminy do 2%.

Wyniki analizy elektroforetycznej 4 preparatów albuminy surowicy przedstawiono w tabeli I.

Tabela I

Charakterystyka preparatów albumin
Characteristics of albumin preparations

Preparat Albumin	Analiza elektroforetyczna Results of electrophoresis		
	albuminy %	alfa-globuliny %	beta-globuliny %
Nr 1 ludzka human	100	0,0	0,0
Nr 2 ludzka human	84	8,0	8,0
Nr 3 bydlęca bovine	100	0,0	0,0
Nr 4 ludzka łożyskowa human placental	91	6,0	3,0

Przedstawione dane wskazują, że Nr 1 i 3 stanowią preparaty czystej albuminy, natomiast preparaty 2 i 4 zawierają domieszki alfa- i beta-globulin.

Reakcja transformacji. Do 3 ml wyżej opisanego, adsorbowanego trzykrotnie węglem aktywowanym bulionu dodawano następujące składniki: 0,4 ml 2,5-procentowego roztworu albuminy, 0,4 ml roztworu czynnika transformującego zawierającego 10μg/ml *DNA* oraz 0,2 ml sześciogodzinnej hodowli dwoinek zapalenia płuc rozcieńczonej w bulionie tysiąckrotnie. Czynnik transformujący dodawano zwykle po 4 godzinach wzrostu.

Po 6—8 godzinach wzrostu pobraną z każdej probówki hodowlę w ilości 0,5 ml rozprowadzano szklaną łopatką dokładnie po całej powierzchni agaru z krwią zawierającego 250 μg/ml streptomycyny, celem stwierdzenia, czy zaszła transformacja w kierunku streptomycynooporności. Szczep biorca był wrażliwy na 25 μg/ml streptomycyny.

WYNIKI

We wszystkich badaniach indukowaną cechą genetyczną była oporność na wspomniany wyżej antybiotyk.

Wyniki przedstawione w tabeli II wykazują, że reakcje transformacji zachodziły w podłożu z płynem opłucnowym, z surowicą świńską i preparatem albuminy Nr 2. Pozostałe trzy preparaty albuminy były nieczynne.

Tabela II

Transformacja w kierunku streptomycynooporności dwoinek zapalenia płuc (szczep *R36A*) w bulionie z dodatkiem płynu opłucnowego, surowicy świńskiej i preparatów albumin Nr 1, 2, 3 i 4

Transformation to streptomycin-resistance in pneumococci (strain *R36A*) in broth containing pleural exudate, pig's serum or albumin (samples Nos. 1, 2, 3 and 4)

Do bulionu dodano Additions to the broth		Aglutynacja Agglutination	Wyniki transformacji (próbki poczwórne) Results of transformation (quadruplicate tubes)			
Białko—Protein w %	*DNA* w μg/ml					
Płyn pleuralny Pleural exudate						
10	1,0	+++	+++	+++	+++	+++
Surowica świńska Pig's serum						
10	1,0	++	+++	+++	+++	+++
Albumina Nr 1						
0,25	1,0	—	—	—	—	—
Albumina Nr 2						
0,25	1,0	+	+++	+++	+++	+++
Albumina Nr 3						
0,25	1,0	—	—	—	—	—
Albumina Nr 4						
0,25	1,0	—	—	—	—	—
Płyn pleuralny Pleural exudate						
10	0	+++	—	—	—	—

+++ więcej niż 1000 kolonii, more than 1000 colonies
— brak transformacji, no transformation

Transformacja nie zachodziła w bulionie z dodatkiem tych trzech albumin, gdy stężenie białka w podłożu wahało się w granicach 0,05—0,5%. Przypuszczano, że brak aktywności niektórych preparatów albuminy w transformacji może być powodowany obecnością w nich inhibitora. Przypuszczenia tego nie udało się jednak potwierdzić.

W tabeli III przedstawiono wyniki doświadczenia, w którym do bulionu zawierającego 0,1% czynnej albuminy Nr 2 dodawano preparat nieczynnych albumin Nr 1, 3 i 4 tak, aby otrzymać końcowe stężenie 0,5%.

Tabela III

Transformacja w bulionie zawierającym aktywną albuminę Nr 2 oraz nieczynne albuminy Nr 1, 3 i 4

Transformation of pneumococci in the broth containing active albumin No 2 and inactive albumins No 1, 3 and 4

Dodano do bulionu Additions to the broth			Wyniki transformacji (próbki poczwórne) Results of transformation (quadruplicate tubes)			
Albumina Nr 2 w %	Albumina Nr 1, 3, 4 w %	*DNA* (w µg/ml)				
0,1	0	1,0	+++	+++	+++	+++
0,1	0	0	—	—	—	—
0	0	1,0	—	—	—	—
0,1	Nr 1 0,5	1,0	+++	+++	+++	+++
0,1	Nr 3 0,5	1,0	+++	+++	+++	+++
0,1	Nr 4 0,5	1,0	+++	+++	+++	+++

Tabela IV

Transformacja w podłożu zawierającym nieczynne preparaty albumin Nr 1, 3 i 4 oraz bardzo nieznaczną ilość surowicy anty-*R*

Transformation of pneumococci in the medium containing inactive albumins No 1, 3 and 4 and traces of anti-*R* serum

Dodano do bulionu Additions to the broth			Wyniki transformacji (próbki poczwórne) Results of transformation (quadruplicate tubes)			
Albumina w %	Rozcieńczenie surowicy anty-*R* Dilution of anti-*R* serum	*DNA* (w µg/ml)				
0	1:200	1,0	+++	+++	+++	+++
0	1:400	1,0	+++	+++	+++	+++
0	1:800	1,0	++	—	—	—
Nr 1 0,25	1:800	1,0	++	+++	+++	+++
Nr 3 0,25	1:800	1,0	++	+++	+++	+++
Nr 4 0,25	1:800	1,0	++	+++	+++	+++

Jak widać, dodatek tak znacznych ilości albumin Nr 1, 3 i 4 nie wpływał na bieg transformacji i nie hamował aktywności preparatu Nr 2.

W czasie badań zauważyliśmy niejednokrotnie, że wzrost w bulionie

zawierającym surowicę świńską, płyn opłucnowy * oraz albuminę Nr 2 jest grudkowy, zaglutynowany i skupiony w całości na dnie probówki. Wzrost w bulionie z dodatkiem albumin nieczynnych w transformacji miał natomiast charakter raczej dyfuzyjny. Wskazywało to, iż aglutyniny anty-*R* mogą być istotnym czynnikiem w transformacji.

Celem sprawdzenia tego przypuszczenia wykonano następujące doświadczenie: do szeregu probówek z bulionem dodano odpornościową surowicę przeciw bezotoczkowym dwoinkom zapalenia płuc (surowica anty-*R*) oraz jeden z preparatów nieczynnej albuminy. Końcowe stężenie surowicy anty-*R* było tak małe, iż ilość białka w niej zawarta była niedostateczna dla uzyskania transformacji, ale dostateczna dla spowodowania aglutynacji. Wyniki tego doświadczenia uwidoczniono w tabeli IV.

Otrzymane dane wskazują, iż można uzyskać transformację w środowisku zawierającym nieczynną albuminę oraz surowicę anty-*R* w bardzo niskim stężeniu. Żaden z tych składników osobno wzięty nie jest dostateczny dla uzyskania transformacji.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Doświadczenia przedstawione w powyższych badaniach wskazują, że wysoce oczyszczone preparaty albuminy nie „uczulają" dwoinek zapalenia płuc w reakcji transformacji w kierunku oporności na streptomycynę.

Preparat Nr 1 surowicy ludzkiej jest jednorodny pod względem elektroforetycznym i nieczynny w transformacji. To samo dotyczy albuminy Nr 3 surowicy bydlęcej. Dwa pozostałe preparaty, oba uzyskane z surowicy ludzkiej, zawierają znaczne ilości alfa- i beta-globulin oraz mają podobne krzywe elektroforetyczne. Jeden z nich jest czynny w transformacji (Nr 2), drugi zaś nie (Nr 4). Jedyna znamienna różnica w składzie tych dwóch preparatów dotyczy zawartości beta-globulin, w preparacie Nr 2 wynosząca około 8%, w preparacie zaś Nr 4 — 3%.

Wynik ten nasuwa myśl, że być może istotnym czynnikiem w transformacji dwoinek zapalenia płuc są również beta-globuliny, które mogą powodować aglutynację form bezotoczkowych. Wiadomo, że normalne surowice wielu zwierząt oraz różne płyny ustrojowe zlepiają bezotoczkowe dwoinki zapalenia płuc.

Badania nasze nad transformacją oporności na streptomycynę zdają się zatem potwierdzać sugestie Mc Carty'ego i współpracowników (1946), uzyskane nad transformacją typów antygenowych. Wskazują one,

---

* W surowicy świńskiej i płynie opłucnowym obecne są aglutyniny dla bezotoczkowych dwoinek zapalenia płuc.

iż środowisko odpowiednie dla transformacji dwoinek zapalenia płuc powinno zawierać prócz czynnika białkowego, który znajduje się w albuminie surowicy ludzkiej lub bydlęcej, czynnik aglutynujący.

Preparat albuminy Nr 4 nie aglutynuje dwoinek zapalenia płuc nawet w stężeniu 0,5%. Być może, preparat ten zawiera za mało beta-globulin (3%). Brak lub niedostateczna ilość beta-globulin (aglutynin) jest, zdaje się zatem, przyczyną nieaktywności w reakcji transformacji preparatów albumin Nr 1, 3 i 4. Hipotezę tę potwierdzają dane tabeli IV wskazujące, że dodatek małej ilości surowicy anty-*R* (1 : 800) uczynnia proces transformacji w podłożach zawierających nieczynne preparaty albuminy.

Wypowiedziane wyżej hipotezy odnoszą się oczywiście tylko do transformacji dwoinek zapalenia płuc.

W pracowni naszej wyodrębniliśmy szereg paciorkowców zieleniejących, u których transformujemy oporność na streptomycynę w bulionie zawierającym preparaty albuminy nieczynne w transformacji dwoinek zapalenia płuc.

LITERATURA

Dawson M. H. and Sia R. H., 1931: *In vitro* transformation of pneumococcal types. I. A technique for inducing transformation of pneumococcal types in vitro. *J. exp. Med.*, **54** : 681.

Edsall J. T., 1947: The plasma proteins and their fractionation. *Adv. Protein. Chemistry*, **3** : 383.

Hotchkiss R. D. and Ephrussi-Taylor H., 1951: Use of serum albumin as source of serum factor in pneumococcal transformation. *Federation Proc.*, : **10**.

Mc Carty M., Taylor H. E. and Avery O. T., 1946: Biochemical studies of environmental factors essential in transformation of pneumococcal types. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **11** : 177.

Mc Carty M. and Avery O. T., 1946: Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. III. An improved method for the isolation of the transforming substance and its application to pneumococcus types II, III and IV, *J. exp. Med.*, **83** : 97.

Pakuła R. and Tyc M., 1956: Zastosowanie czynnika litycznego ze szczepow z rodzaju *Streptomyces* (aktynomycetyny) do ekstrakcji kwasu dezoksyrybonukleinowego z bakterii. *Med. Dośw. Mikrob.*, **4** : 523.

Shaeffer P., 1956: Analyse genetique de la resistance a la streptomycine chez le pneumocoque. *Ann. Inst. Pasteur*, **91** : 323.

Stumpf P. K., 1947: A colorimetric method for determination of desoxyribonucleic acid. *J. Biol. Chem.*, **169** : 367.

Thomas R., 1955: Recherchez sur la cinetique de transformations bacteriennes *Biochim. Biophys. Acta*, **18** : 467.

R. Pakuła, W. Walczak, Z. Fluder and *K. Zakrzewski*

THE ENVIRONMENTAL CONDITIONS OF TRANSFORMATION OF PNEUMOCOCCI. THE ROLE OF ALBUMIN

Summary

Four serum albumin preparations were tested as factors „sensitizing" pneumococcal cells for transformation to streptomycin resistance. Two electrophoretically homogenous preparations were found ineffective. One of the remaining two preparations, containing a considerable amount of beta-globulin (8%) and causing agglutination of *R* pneumococci in a concentration of 0,2%, was effective in transformation.

The above and other observations suggest that *R* agglutinins may be an essential factor in the transformation of *R* pneumococci to streptomycin resistance.

This may by true only for pneumococci since in this laboratory non hemolytic streptococci were transformed to steptomycin resistance in a medium containing serum albumin preparations ineffective in transformation of pneumococci.

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA
1958, 7, 105—113

K. Zgirska-Wawrzkiewicz

NOWA POSTAĆ WŁOSKOWCA RÓŻYCY ŚWIŃ

Z Katedry Mikrobiologii Wydziału Weterynaryjnego
Wyższej Szkoły Rolniczej w Lublinie

Wpłynęło dnia 20 kwietnia 1958 r.

Występowanie włoskowca różycy w dwóch odrębnych postaciach, różniących się między sobą właściwościami morfologicznymi i wzrostowymi, zostało opisane już przez Wyszelesskiego (1912). W wyniku licznych dalszych badań (Schmidt 1924, Bierbaum 1924, Gerlach 1924, Spryszak i Szymanowski 1929, Trawiński 1930, Meyn 1931, Redlich 1932, Barber 1939) poznano bliżej to zjawisko dwupostaciowości włoskowca. Jedną z tych postaci określono jako formę gładką (*S*), drugą — jako szorstką (*R*). Różnice pomiędzy tymi dwoma formami nie są zbyt duże.

W pracy obecnej opisano trzeci typ morfologiczny włoskowca różycy.

BADANIA WŁASNE

Jednym z zagadnień rozpatrywanych w naszej pracy zakładowej nad włoskowcem różycy była dysocjacja poszczególnych szczepów na postać *S* i *R*.

W tym celu użyto 7 różnych podłoży: pożywka agarowa z następującymi dodatkami: 0,05% fenolu, 0,1% fenolu, 0,5% fenolu, 1, 5 i 10% surowicy przeciwróżycowej końskiej i 10% normalnej surowicy końskiej niekonserwowanej. Na 5 badanych szczepów laboratoryjnych *Erysipelothrix rhusiopathiae* (*Er. 110*, *Er. 111*, *Er. 112*, *Er. 126*, *Er. 127*) udało się uzyskać postać *R* tylko u dwóch (*Er. 111* i *Er. 126*) po 3—4 pasażach i to jedynie na podłożu agarowym z dodatkiem 10% normalnej surowicy końskiej. Dokładniej opracowano 1 z tych szczepów, a mianowicie *Er. 126* należący do grupy *B* według Dédiego.

Przy jednym z kolejnych przesiewów szczepu *Er. 126* na podłoże agarowe z dodatkiem normalnej surowicy końskiej zauważono, że oprócz ty-

powych kolonii postaci *R* i *S* pojawiły się także kolonie wybitnie odbiegające od poprzednich kształtem, barwą i budową; kolonie te oznaczono jako *X*. Są to kolonie (przy oglądaniu pod mikroskopem 1 : 50) barwy żółtawobrunatnej, niemal okrągłe, wielkości pośredniej między koloniami postaci *S* i *R*, o brzegu drobnostrzępiastym, wnętrzu drobnoziarnistym, ciemniejszym. Całość robi wrażenie zbitego kłębka żółtawych nici, których liczne końce wystają nieco na zewnątrz w postaci maleńkich wypustek. Badanie mikroskopowe bakterii wykazało tak znaczne różnice morfologiczne w stosunku do postaci *S* i *R* włoskowca różycy, że podejrzewano nawet zanieczyszczenie obcymi bakteriami. Ponieważ jednak opisane wyżej kolonie pojawiały się wielokrotnie przy przeszczepianiu włoskowca *Er. 126* na agar surowiczy, przebadano dokładnie ich właściwości morfologiczne, hodowlane, biochemiczne, biologiczne i serologiczne.

Morfologia: Badaniom morfologicznym poddano bakterie wyhodowane na agarze surowiczym (o składzie: bulion z mięsa końskiego, pepton bakteriologiczny „Bacutil" 1,5%, agar koreański włóknisty 3%, normalna surowica końska 10%, *pH* 7,6%). Kształt, budowa wewnętrzna oraz barwa kolonii włoskowca *Er. 126* postaci *S* i postaci *R* nie odbiegały od opisywanych w literaturze (fot. 1, 2). Kolonie *Er. 126* postaci *X*, podobnie jak przy pierwszym wyosobnieniu, miały zabarwienie żółtawe do brunatnego oraz kształt i budowę opisaną powyżej. Dokładniejszego opisu nie podaję, ze względu na załączoną fotografię (fot. 3). Postacie *S*, *R* i *X* wykazują również pewne różnice w wielkości kolonii. Dane graniczne uzyskane na podstawie pomiaru 100 kolonii podaje tabela I.

Tabela I

E. rhusiopathiae Nr *126*; średnica kolonii na agarze surowiczym
E. rhusiopathiae No *126*; diameter of colonies on serum agar plate

Hodowla (w godz.) Incubation (in hours)	Postać *S* *S*-type w mm	Postać *R* *R*-type w mm	Postać *X* *X*-type w mm
24	0,2—0,26	0,7—0,78× ×0,78—0,98	0,47—0,58
98	0,2—0,4	0,7—1,4× ×1,0—1,6×	0,5 —1,0

Preparaty mikroskopowe wykonano z hodowli 24-godzinnej (37°) na tym samym agarze surowiczym.

Preparaty do fotografowania barwiono wodnym roztworem fioletu krystalicznego (10 ml roztworu nasyconego + 90 ml wody destylowanej + 1% fenolu).

Wygląd bakterii podają załączone fotografie (fot. 4, 5 i 6). Wymiary bakterii postaci *S* wynoszą 1,2—3,0 × 0,3 μ; postać *R* daje długie nici o średnicy około 0,38 μ, postać *X* tworzy bardzo długie znacznie grubsze nici; średnica ich wynosi około 0,56 μ. Pod względem cech morfologicznych odbiega więc znacznie od postaci *S* i *R* włoskowca różycy. Postać *X* posiada pewne cechy przypominające postać *S* (okrągły kształt kolonii) i postać *R* (ziarnista powierzchnia, postrzępiony brzeg kolonii, długie nici na preparatach mikroskopowych). Jednak żółtawobrunatnawa barwa kolonii (widoczna pod mikroskopem), ich odmienna budowa, wreszcie widoczne na preparatach mikroskopowych długie, silnie poskręcane nici i towarzyszące im zawsze maleńkie, ciemnobarwiące się twory kuliste pozwalają łatwo i z całą pewnością odróżnić postać *X* od dwóch pozostałych.

Własności hodowlane. Wzrost poszczególnych postaci włoskowca *Er. 126* obserwowano na bulionie peptonowym końskim (*pH* — 7,6), na pożywce diagnostycznej stałej Brill-Szynkiewicza, oraz na żelatynie. Hodowlę prowadzono w temperaturze 37°, za wyjątkiem żelatyny, którą przetrzymywano w temperaturze 20°. Wyniki podaje tabela II.

Tabela II

E. rhusiopathiae Nr *126*; wzrost na różnych pożywkach (po 24 godz.)
Er. rhusiopathiae No *126*; growth on different media (24 hours)

Postać Type	Bulion Nutrient broth		Pożywka: Brill-Szynkiewicza Selective medium of Brill-Szynkiewicz	Żelatyna kłuta Gelatin stab.
	męt clouding	osad sediment		
S	±	−	+	+
R	+	+	+	+
X	−	±	+	+

Przy badaniu makroskopowym kolonii poszczególnych postaci włoskowca na agarze surowiczym nie stwierdza się żółtawej barwy kolonii postaci *X*, widocznej przy badaniu mikroskopowym; barwa ich jest raczej matowobiała. Na bulionie postać *X* wyróżnia się zupełnym brakiem zmętnienia. Na pozostałych pożywkach ani po 24 godzinach ani po 7—10 dniach różnic nie stwierdzono.

Własności biochemiczne. Własności biochemiczne wszystkich postaci badano na wodzie peptonowej z dodatkiem 1% różnych cukrów i błękitu bromotymolowego. Posiewy na pożywki wykonywano z 24-godzinnej hodowli agarowej. Kultury przetrzymywano w temperaturze 37° przez 2 tygodnie i sprawdzano co dwa dni.

Tabela III

E. rhusiopathiae Nr *126*; własności biochemiczne — *Er. rhusiopathiae* No *126*; biochemical characters

Postać Type	H_2S	Katalaza Catalase	Laktoza Lactose	Glikoza Glucose	Fruktoza Fructose	d-Galaktoza d-Galactose	Sacharoza Saccharose
S i R	+	—	—	+	+	+	—
X	+	—	—	—	+	—	—

c. d. tabeli III

Rafinoza Raffinose	Arabinoza Arabinose	Trehaloza Trehalose	Ksyloza Xylose	Mannitol Mannitol	Dulcytol Dulcitol	Sorbitol Sorbitol
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—

Próbę na siarkowodór wykonano na pożywce bulionowej z użyciem jako wskaźnika papierków nasyconych octanem ołowiu. Do próby na katalazę służyła 24-godzinna hodowla agarowa. Badania powtarzano trzykrotnie. Wyniki podaje tabela III.

Wyniki wskazują na wyraźne zredukowanie systemu enzymatycznego postaci *X*; postać ta zakwasza jedynie fruktozę i to z opóźnieniem (po 4—5 dniach).

Badania biologiczne. Badania zjadliwości przeprowadzono na białych myszkach. Myszy zakażano podskórnie 24-godzinną hodowlą bulionową (bulion zwykły) w dawce 0,1 ml. Badanie powtarzano dwukrotnie, używając każdorazowo po 2 myszy dla każdej postaci włoskowca. Otrzymane wyniki ilustruje tabela IV.

Badanie biologiczne nie wykazało większych różnic zjadliwości między postacią *X* a postacią *S* i *R*. Przy posiewach dokonanych z myszek padłych na skutek szczepienia postacią *X* otrzymywano przeważnie postać *S*, co wskazuje, że postać *X* jest jedną z postaci włoskowca różycy.

Dla ostatecznego sprawdzenia tego zagadnienia nastawiano dodatkowo badanie zjadliwości postaci *X* w stosunku do myszy uodpornionych przeciw różycy: biernie — surowicą przeciw różycową końską, lub czynnie — przy pomocy hodowli szczepu niezjadliwego Stauba. Wyniki podaje tabela V.

Jak wynika z tabeli V, myszy uodpornione biernie za pomocą surowicy przeciwróżycowej, lub czynnie kulturą Stauba, przestają być wrażliwe na zakażenie postacią *X*, co stanowi jeszcze jeden przekonywający dowód przynależności tej postaci do gatunku włoskowca różycy.

Tabela IV

E. rhusiopathiae Nr *126*; zjadliwość dla białych myszy
E. rhusiopathiae No *126*; virulence for white mice

Postać Type	Dzień padnięcia Day of death	Wyhodowano postać Recovered type
S	4—5	*S*
R	6	*S* i R
X	3—6	*S*, w jednym przypadku *S*, in one a case

Badanie serologiczne. Badanie przeprowadzano metodą aglutynacji i precypitacji z użyciem surowicy przeciwróżycowej poliwalentnej handlowej i posiadanej surowicy monowalentnej precypitacyjnej przeciw szczepowi włoskowca Nr *51/127*, należącemu do grupy *B* Dédiego. Próbę zlepną nastawiano z antygenem żywym, który stanowiła 24-godzinna hodowla bulionowa (bulion zwykły). Surowicę rozcieńczano płynem Kocha (0,5% fenolu). Wyniki odczytywano po 24 godzinach przetrzymywania w 37°. Antygen do próby precypitacyjnej przygotowano według Lancefield. Wyniki podaje tabela VI.

Powyższe wstępne badania nie wykazały różnic w budowie antygenowej trzech postaci włoskowca różycy. Przeprowadzono zatem dalsze badania serologiczne. W tym celu przygotowano surowice precypitacyjne przeciw postaciom *S*, *R* i *X*. Króliki uodparniano szczepionką formolową o gęstości około 900 mln bakterii w 1 ml (według skali Mc Farlanda). Zwierzęta otrzymywały po 2 serie złożone z 6 codziennych wstrzykiwań w dawce po 2 ml, z tygodniową przerwą między seriami. Z otrzymanymi surowicami wykonano precypitację krzyżową (antygen według Lancefield).

Różnic antygenowych między postaciami *S*, *R* i *X* nie stwierdzono. Następne próby przeprowadzone przez wysycanie aglutynin z zastosowaniem odczynu Castellaniego będą tematem następnego doniesienia.

Tabela V

E. rhusiopathiae Nr *126* postać *X* — zjadliwość w stosunku do myszek uodpornionych przeciw różycy świń
E. rhusiopathiae No *126* type *X* — virulence for immune white mice

Nr myszy / No of mice	Dawka surowicy przeciw różycowej [1] w ml / Dose of anti-swine erysipelas serum [1] in ml	Dawka 24 g. hod. bul. Stauba [1] w ml / Dose of 24 h. broth culture of Staub [1] strain in ml	Obserwacja 2 tyg. po uodpornieniu / Observation 2 weeks after immunization	Dawka 24-godzinnej hodowli bulionowej w ml / Dose of 24 hours broth culture	Obserwacja / Observation — dzień po zakażeniu / day after infection 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Wyhodowano: / Recovered:
1	0,2	—	—	0,1 [2]	z	z	z	z	z	z	z	z	z	z	z	z	
2	0,2	—	—	0,1 [2]	z	z	z	z	z	z	z	z	z	z	z	z	
1	—	—	—	0,1 [2]	z	z	z	ch	+	—	—	—	—	—	—	—	Postać *S* i 1 kolonia w połowie *X* Type *S*; one colony in half *X*
2	—	—	—	0,1 [2]	z	z	z	ch	+	—	—	—	—	—	—	—	Postać *S* Type *S*
1 —	—	0,1	z	0,1 [1]	z	z	z	z	z	z	z	z	z	z	—	—	Postać *S* Type *S*
2 —	—	0,1	z	0,1 [1]	z	z	z	z	z	z	z	z	z	z	—	—	—„—
3 —	—	—	z	0,1 [1]	z	z	z	z	+	—	—	—	—	—	—	—	—„—
4 —	—	—	z	0,1 [1]	z	z	z	z	ch	+	—	—	—	—	—	—	—„—

z — zdrowa, healthy + — padła, dead
ch — chora, sick
1 — podskórnie — subcutaneous
2 — dootrzewnowo — intraperitoneal

W toku dalszych badań starano się odpowiedzieć na pytanie co do pochodzenia i warunków powstawania postaci *X*. W tym celu zastosowano pasaże przez pożywki i zwierzęta doświadczalne. Pojedyncze kolonie postaci *S*, *R* i *X* pasażowano przez podłoża agarowe z dodatkiem 10% normalnej surowicy końskiej oraz przez podłoża agarowe niewzbogacone. Ogółem zastosowano 10 pasaży. Przy kolejnych posiewach postaci *S* otrzy-

Tabela VI

E. rhusiopathiae Nr *126* — Aglutynacja i precypitacja z surowicą swoistą

E. rhusiopathiae No *126* — Agglutination and precipitation with anti-swine-erysipelas serum

Postać / Type	Miano aglutynacyjne Agglutinin titer		Precypitacja z surowicą monowalentną (anty *B*) Precipitation with monovalent serum (anti *B*)	
	Surowica monowalentna Monovalent serum anti E type B	Surowica poliwalentna Polivalent serum	Czas Time	Wynik Result
S	50—100	25	3′	++
R	200—400	50	3′	++
X	50—100	50	3′	++

mywano zawsze postać *S*. W dwóch przypadkach, gdy wykonano posiew starej kolonii postaci *S* (jedna 15-dniowa, druga 63-dniowa), otrzymano zarówno kolonie typu *S*, jak i *X*. Przy pasażowaniu kolonii postaci *X* kilkakrotnie wyosabniano z nich postać *S*. Obserwowano również kolonie typu *SX* (część kolonii w postaci *S*, a część w postaci *X*), które przy następnym pasażu dawały się łatwo rozdzielić na typowe kolonie *S* i *X*. Stwierdzono, że nie każda kolonia typu *X* ulega dysocjacji w czasie pasażowania przez podłoże agarowe na *X* i *S*.

Ciekawy wydaje się fakt, że przez cały czas obserwacji nie stwierdzono ani razu dysocjacji postaci *R* na *R* i *X*, ani też zjawiska odwrotnego. Natomiast wyosobnienie z postaci *R* postaci *S* przy pasażowaniu przez płytki surowicze zostało stwierdzone.

Wyniki pasaży przez zwierzęta ilustrują tabele IV i V. Na pytanie, w jakich warunkach i kiedy tworzy się postać *X* z szczepu *E. r. 126*, a więc co jest właściwą przyczyną powstawania postaci *X*, nie udało się niestety w naszych badaniach odpowiedzieć.

Przypuszczenia, że postać *X* powstaje w wyniku zakażenia postaci *S* swoistym bakteriofagiem, nie udało się potwierdzić. Przesącze (przez są-

czek Seitza EKS) wykonane z 24-godzinnej hodowli bulionowej *X*, sprawdzonej uprzednio mikroskopowo i w hodowlach, dodawane do postaci *S* nie powodowały przejścia tych ostatnich w postać *X*. Nie zauważono również nadżerek lub lizy kolonii. Być może, że pojawienie się postaci *X* włoskowca związane jest ze zmianami struktur powierzchniowych komórek bakteryjnych. Tak bowiem tłumaczy Kunicki-Goldfinger (1954) zmiany własności antygenowych, hodowlanych, biochemicznych, zmiany zjadliwości, wrażliwości na fagi itp. przy przechodzeniu bakterii z jednej fazy w drugą; być może jednak, iż odgrywają tu rolę jakieś inne mechanizmy.

Stwierdzenie istnienia trzeciej postaci włoskowca różycy jest jeszcze jednym dowodem, świadczącym o wielkiej elastyczności i plastyczności bakterii.

Na zakończenie pragnę złożyć bardzo serdeczne podziękowanie kierownikowi Katedry docentowi drowi Tadeuszowi Jastrzębskiemu za cenne rady, wskazówki i pomoc udzielane mi w toku pracy oraz koledze lek.-wet. J. Buczkowi za wiele trudu włożonego przy wykonaniu potrzebnych do pracy fotografii.

LITERATURA

Barber M., 1939: A comparative study of *Listerella* and *Erysipelothrix*, *J. Path. Bact.* **48** : 11.

Bierbaum K., 1924: Über den sogenannten Pararotlaufbazillus, *Berl. Tierärztl. Wochensch*: 306.

Gerlach F., 1924: Zwei Arten des Rotlaufbazillus (Rotlauf-und Pararotlaufbazillus), *Deutsche Tierärztl. Wochenschr*: 578.

Kunicki-Goldfinger W., 1954: *Acta Microbiol. Polon.*, **3** : 199.

Meyn A., 1931: Über Glatt- und Rauhformen bei Rotlaufbakterien, *Zentr. Bakter. I, O.*, **122** : 507.

Redlich E., 1932: Glatte und rauhe Kolonien bildende Rotlaufbakterien im kranken Schwein, *Zeitschr. Infektionskrank.* **42** : 300.

Schmidt E., 1924: Zwei Arten des Rotlaufbazillus (Rotlaufbazillus und Pararotlaufbazillus), *Berl. Tierärztl. Wochenschr.*: 155.

Spryszak A., Szymanowski Z., 1929: Sur la variabilite du Bacille du rouget du porc, *C. r. Soc. Biol.* **100** : 1151.

Trawiński A., 1930: Beitrag zur Morphologie des Schweinerotlaufbazillus, *Zentr. Bakter., I, O.*, **116** : 423.

Wyszelesski S. N., 1912: Bemerkenswerte Befunde bezüglich des Wachstums des Bacillus des Schweinerotlaufs, *Zschr. Infectionskr. Haustiere*, **12** : 43.

K. Zgirska-Wawrzkiewicz

A NEW FORM OF *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE*

Summary

During transfers of strain *126 E. rhusiopathiae*, type *B* (Dèdie) on horse serum agar a new form of this organism, designated *X*, was isolated. The new form differs somewhat from the *S* and *R* forms known till now.

The agar colonies of the new form are dullish-white, circular, fimbriate, with fine granular dark centre. The diameter of the X form colony amounts to about 0,5 mm, while the diameters of the colonies of *S* and *R* forms are 0,23 and 0,75 mm, respectively. There is an aboundant sediment and no turbidity in nutrient broth inoculated with form *X*.

The *X* form has been isolated many times from the single *S* colonies and *vice versa*. The dissociation of the *R* form into the *X* form was however not observed. The bacteria in *X* form formed very long filaments, relatively very thick (0,56 μ as compared with the thickness of bacteria in *S* and *R* forms being 0,30 μ and 0,38 μ, respectively). In filaments the author observed many strongly gram-positive granules. The *X* form fermented slowly only fructose.

Mice immunized passively and actively against swine erysipelas and inoculated subsequently with the broth culture of *X* form survived, while the control animals died 4—6 days after inoculation. Serological examination showed no differencies in antigenic structure of the three forms tested (*S*, *R* and *X*).

OBJAŚNIENIA FOTOGRAFII

E. rhusiopathiae 126

Morfologia kolonii. Kolonie na agarze po 48-godzinnej inkubacji (50×)

Fot. 1 — typ *S*, Fot. 2 — typ *R*, Fot. 3 — typ *X*

Morfologia bakterii. Preparat z 24-godzinnej hodowli na agarze z surowicą. Barwione fioletem krystalicznym (2000×)

Fot. 4 — typ *S*, Fot. 5 — typ *R*, Fot. 6 — typ *X*

EXPLANATION OF PHOTOGRAPHS

E. rhusiopathiae 126

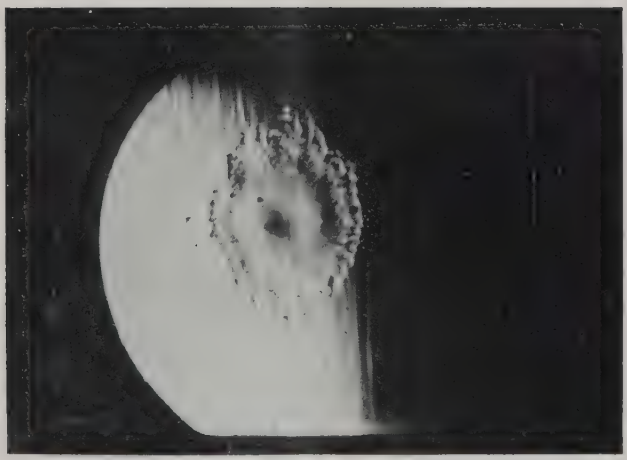
Morphology of colonies. Colonies after 48 hours of incubation on an agar medium (50×).

Phot. 1 — type *S*, Phot. 2 — type *R*, Phot. 3 — type *X*

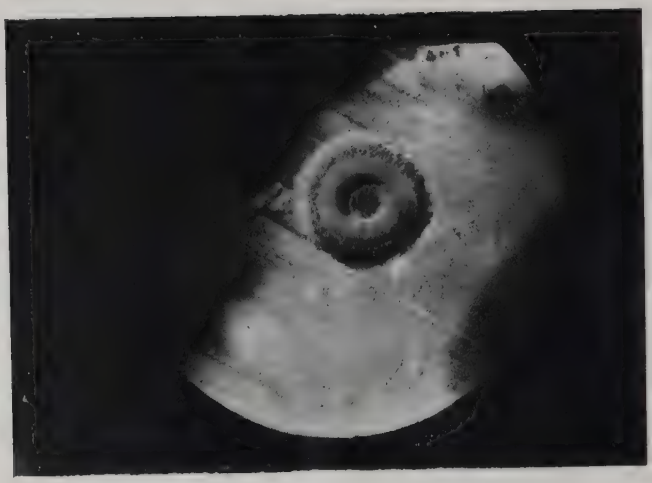
Morphology of bacteria. 24-hours culture on serum agar. Stained with cristall violett (2000×).

Phot. 4 — type *S*, Phot. 5 — type *R*, Phot. 6 — type *X*

Fot. 1

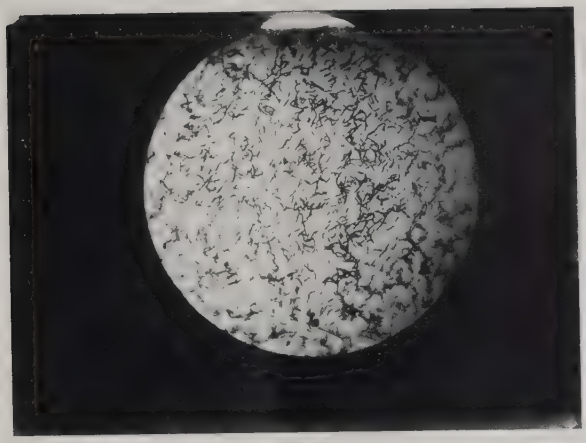


Fot. 2



Fot. 3

Fot. 4



Fot. 5

Fot. 6

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA
1958, 7, 115—123

E. Strzelczyk

WPŁYW RÓŻNYCH ROŚLIN UPRAWNYCH NA LICZEBNOŚĆ AZOTOBAKTERA I *CLOSTRIDIUM* W ICH RIZOSFERZE

Z Zakładu Mikrobiologii Rolnej Wyższej Szkoły Rolniczej w Lublinie

Wpłynęło dnia 5 kwietnia 1958 r.

Badania nad wpływem roślin na bakterie glebowe prowadziło już wielu badaczy (Lochhead 1940, 1947, Lochhead i Thexton 1947, Starkey 1929, Katznelson 1946, Katznelson i współpracownicy 1956, Krasilnikow 1944a, 1944b, Bierezowa 1950, 1956, Bierezowa i Rempe 1953, Woźniakowska 1948 i inni). W Polsce w latach powojennych publikowali na ten temat prace: Balicka (1951, 1952a, 1952b, 1952c), Dobrzańska (1955), Maliszewska (1949, 1952), Ziemięcka (1950, 1953), Ziemięcka i Maliszewska (1956) i inni.

Jak wiadomo, w rizosferze czyli w zasięgu korzeni roślin występuje znacznie więcej drobnoustrojów niż w glebie oddalonej od korzeni. Rośliny mogą działać na rozwój drobnoustrojów nawet silniej niż nawożenie, na które bakterie są bardzo wrażliwe (Wallace i Lochhead 1949, 1950, West i Lochhead 1940). Zaobserwowano też, że w czasie trwania rozwoju roślin zmienia się zarówno ilość, jak i jakość drobnoustrojów w ich rizosferze (Katznelson i współpracownicy 1956, Krasilnikow 1944a i inni). Niewątpliwie jedną z przyczyn silnego rozwoju drobnoustrojów wokół korzeni roślin są ich wydzieliny korzeniowe (Bierezowa i Rempe 1953, Wallace i Lochhead 1949). Swoisty dla poszczególnych gatunków roślin skład tych wydzielin selekcjonowałby też charakterystyczne dla tych gatunków zespoły drobnoustrojów. Rośliny mogą wydzielać przez korzenie takie związki, jak: cukry, kwasy organiczne, aminokwasy (Krasilnikow 1944a, Lochhead i Thexton 1947, Wallace i Lochhead 1950,

West i Lochhead 1940), substancje wzrostowe (Mieszkow 1952) i alkaloidy (Bukatsch 1956).

Powodem selekcjonowania się różnych zespołów drobnoustrojów w rizosferze może być też wzajemny stosunek do siebie różnych ich rodzajów. Na przykład według Fiodorowa i Tieppiera (1947) w rizosferze prosa występują liczne pałeczki, które niszczą w obrębie tej rośliny azotobaktera.

Prace nad występowaniem i przeżywalnością azotobaktera w rizosferze roślin prowadzili między innymi Bukatsch (1956), Fiodorow i współpracownicy (1947, 1954), Heller i Chariton (1951), Krasilnikow (1944a, 1944b), i Szełoumowa i Sztucjer (1947). Jednak wyniki ich badań nie były jednakowe.

W przeciwieństwie np. do Krasilnikowa (1944a), Jensen i Swaby (1940) nie stwierdzili stymulującego wpływu korzeni roślin motylkowych na rozwój azotobaktera. Clark (1949) znalazł azotobaktera w rizosferze pszenicy uprawianej na glebie nie zawierającej tej bakterii, podczas gdy Krasilnikow (1944a) uważa pszenicę za roślinę hamującą jej rozwój. Szełoumowa (1947) nie potwierdza toksycznego działania wydzielin korzeniowych pszenicy na rozwój azotobaktera.

Krasilnikow (1944a) wyróżnia wśród roślin uprawnych takie, które stymulują rozwój azobaktera (motylkowe), które hamują jego rozwój (pszenica, kukurydza, len, bawełna) oraz te, które nie wykazują żadnego działania na tę bakterię (owies, jęczmień, ziemniaki, słonecznik i inne).

Prace nad występowaniem *Clostridium* w rizosferze są mniej liczne. Krasilnikow (1944a) oraz Woźniakowska (1948) obserwowali gromadzenie się *Clostridium pasteurianum* w rizosferze pszenicy i kukurydzy. Katznelson (1946) stwierdził wyraźny wpływ korzeni buraków na tę bakterię. W dalszych badaniach ten sam autor znalazł większe ilości beztlenowców w rizosferze pszenicy, owsa, lnu, tymotki i koniczyny niż w glebie oddalonej od korzeni.

Badania rozmieszczenia w glebie tak ważnej grupy fizjologicznej jak asymilatory wolnego azotu nie są więc liczne i dają wyniki różnorodne.

Wobec tego autor niniejszej pracy starał się wyświetlić wpływ powszechnie uprawianych u nas roślin na rozwój w ich rizosferze azotobaktera i *Clostridium*.

BADANIA WŁASNE

Metodyka badań

W celu zbadania wpływu roślin na liczebność w ich rizosferze azotobaktera i *Clostridium*, założono w latach 1956 i 1957 poletka doświadczalne na lessie o *pH* około 7.0, nie stosując nawożenia. Na poletkach

tych uprawiano 14 różnych roślin: jęczmień, kukurydza, owies, proso, pszenica, groch, łubin, wyka, konopie, len, mak, gryka, rzodkiew i cebula. Dla każdej rośliny przeznaczono poletko o powierzchni około 0,5 m^2. Analizy mikrobiologiczne wykonywano w następujących okresach rozwoju roślin: 1) wczesne stadium rozwojowe (wiek rośliny około jednego miesiąca), 2) przed kwitnieniem (około 10—14 dni przed kwitnieniem), 3) w czasie kwitnienia, 4) w czasie owocowania, 5) po zbiorze plonów analizowano tylko niektóre rośliny.

Do badań wykopywano po kilkanaście roślin, otrząsano glebę z ich korzeni, a następnie 5—10 g korzeni ze ściśle przylegającą do nich glebą przenoszono do butelek ze 100 ml sterylnej wody. Butelki wstrząsano przez 15 minut i z otrzymanej w nich zawiesiny przygotowywano po kilka rozcieńczeń. Zawartość butelek z korzeniami sączono przez wysuszone w 105° sączki bibułowe o znanym ciężarze. Oznaczano w ten sposób ilość gleby przylegającej do badanych korzeni i użytej do analizy. Ilość badanych drobnoustrojów przeliczano na 1,0 g suchej masy gleby. Równocześnie pobierano do badań około 100 g próbki gleby z międzyrzędzi (z 4—6 miejsc). Do oznaczania liczebności azotobaktera w badanych glebach i na korzeniach używano pożywki o następującym składzie: sacharoza — 10 g, K_2HPO_4 — 0,5 g, $MgSO_4$ — 0,2 g, NaCl — 0,2 g, $MnSO_4$ — ślady, $FeSO_4$ — ślady, $CaCO_3$ — 5,0 g, agar — 14,0 g, woda destylowana — 1000 ml, *pH* — około 7,0. Na płytki z zestaloną pożywką agarową wlewano po 1 ml odpowiedniego rozcieńczenia gleby, robiono na niej równomierny rozmaz i podsuszano w temperaturze około 35°. Hodowlę płytkową prowadzono w 28° przez 2 — 3 dni, po czym liczono wyrosłe na płytkach kolonie azotobaktera. Stosowano rozcieńczenia: 1 : 10, 1 : 50, 1 : 100, 1 : 1000. Z każdego rozcieńczenia robiono po 5 równoległych powtórzeń.

Ilości *Clostridium* oznaczano w bezazotowej pożywce agarowej o następującym składzie: sacharoza — 10,0 g, K_2HPO_4 — 1,0 g, wyciąg glebowy (z lessu) — 100 ml, agar — 14,0 g, woda wodociągowa — 900 ml, *pH* około 7,0. Hodowle prowadzono w wąskich, wysokich probówkach. Do każdej probówki wlewano po 1 ml odpowiedniego rozcieńczenia gleby oraz 5 ml pożywki. Po zestaleniu się pożywki wlewano na nią słup oleju parafinowego, wysokości około 2 cm, odcinając w ten sposób dostęp powietrza. Stosowano rocieńczenia: 1 : 1000, 1 : 10 000, 1 : 50 000, 1 : 100 000 i 1 : 1 000 000. Z każdego rozcieńczenia gleby robiono po 5 równoległych powtórzeń. Hodowlę prowadzono w temperaturze 28° w ciągu 5—6 dni.

WYNIKI BADAŃ

W tabeli I i II podane są znalezione przez nas ilości azotobaktera oraz *Clostridium* na korzeniach 14 różnych roślin i w glebie poza ich zasięgiem. Liczebność tych drobnoustrojów oznaczano w ciągu lat 1956—1957 w różnych okresach rozwoju badanych roślin.

Jak wykazują tabele I i II, liczebność azotobaktera w glebie poza korzeniami wahała się w granicach kilkudziesięciu komórek na 1 g suchej masy gleby, nie przekraczając nigdy 100 komórek na 1 g. Ta mała ilość azotobaktera utrzymywała się przez oba badane okresy wegetacyjne. Ułatwiło nam to nasze zadanie polegające na porównaniu wpływu blis-

kiego sąsiedztwa z korzeniami różnych roślin na rozprzestrzenienie azotobaktera w glebie.

Clostridium znaleziono w glebie znajdującej się poza zasięgiem korzeni znacznie więcej niż azotobaktera. Wahania liczebności jego komórek były przez oba sezony wegetacyjne równie nieznaczne jak azotobaktera i można przyjąć, że było go w samej glebie około 10000 na 1 g.

Tabele wykazują, że rizosfera wszystkich zbadanych roślin była dla obu tych bakterii korzystniejszym środowiskiem niż sama gleba.

Azotobakter.

Poza zasięgiem korzeni znajdowano zaledwie kilkadziesiąt komórek azotobaktera na 1 g suchej masy gleby, a na korzeniach ilości jego wahały się od 100 do nawet 50 000 (także na 1 g suchej masy gleby). Tak wielkie różnice wynikałyby z różnego oddziaływania poszczególnych roślin i w różnych okresach ich rozwoju. W ciągu obu lat badań największe ilości tej bakterii znajdowano na korzeniach rzodkiewki. Na liczebność tej bakterii wpływały dodatnio także: mak, niektóre rośliny motylkowe (łubin, groch), konopie i z roślin zbożowych jęczmień. W rizosferze wymienionych roślin w pewnych okresach ich rozwoju znajdowano kilka do kilkunastu tysięcy komórek na 1 g suchej masy gleby. Odpowiadałoby to zwiększeniu się liczby azotobaktera pod wpływem sąsiedztwa z korzeniami 10—150 razy w stosunku do jego liczebności w glebach kontrolnych. Inne rośliny zbożowe, z wyjątkiem jęczmienia, a więc pszenica, owies, proso, kukurydza i gryka oddziaływały bardzo nieznacznie na tę bakterię w ciągu obu lat. To samo można powiedzieć o wyce. Liczby komórek azotobaktera nie przekraczały na korzeniach tych roślin 200—300 na 1 g suchej masy gleby, tylko na lnie i gryce dochodząc do 600—700. W tej więc grupie sześciu roślin (pszenica, proso, kukurydza, wyka, len i gryka) sąsiedztwo z ich korzeniami zwiększałoby ilość azotobaktera tylko 2—7 razy w stosunku do ilości tej bakterii w glebie kontrolnej. Stosunkowo największy w tej grupie był wpływ gryki i lnu. Nie znaleziono azotobaktera tylko w rizosferze cebuli, którą wyjątkowo badano tylko jednokrotnie w obu sezonach wegetacyjnych, tj. po upływie miesiąca od chwili posadzenia dymki.

Porównując nasze wyniki z wynikami innych badaczy stwierdzamy w wielu wypadkach dużą zgodność. Na przykład wyniki nasze uzyskane w badaniach nad pszenicą byłyby zgodne z obserwacjami Daste'a (1950), który stwierdził mnożenie się azotobaktera w rizosferze pszenicy we wczesnych stadiach jej rozwoju, po czym liczebność tej bakterii malała. Jak już wzmiankowano, największe ilości azotobaktera w ciągu obu lat badań znaleziono w rizosferze rzodkiewki, co potwierdzałoby wyniki Ziemięckiej i Maliszewskiej (1956). Stwierdzony przez nas ujemny wpływ cebuli na rozwój azotobaktera byłby również zgodny ze

spostrzeżeniami tych autorek. Zauważony przez nas korzystny wpływ roślin motylkowych na liczebność azotobaktera byłby zgodny z wynikami uzyskanymi przez K r a s i l n i k o w a (1944a), nasze wyniki nie potwierdzałyby natomiast zdania tego autora, że pszenica, kukurydza i len hamują rozwój tej bakterii.

Wpływ stadium wegetacyjnego na liczebność azotobaktera na korzeniach był na ogół wyraźny i zgodny w obu sezonach wegetacyjnych. Różne gatunki roślin oddziaływały przy tym swoiście. Na przykład łubin działał dodatnio przez cały czas, rzodkiewka i jęczmień oddziaływały najkorzystniej w okresie kwitnienia i owocowania, mak przed i w czasie kwitnienia, a konopie, kukurydza i pszenica w najwcześniejszym stadium wegetacyjnym.

Wydaje się, że na ogół kwitnienie jest tym okresem, w którym rośliny najsilniej stymulują rozwój azotobaktera. Wobec jednak rozbieżności wyników badań w obrębie takich grup roślin jak zbożowe lub motylkowe sądzimy, że ten rozdział naszych badań należałoby jeszcze powtórzyć przed wyciąganiem definitywnych wniosków o tym, w jakich okresach swego rozwoju poszczególne rośliny działają najsłabiej, a w jakich najwydatniej.

C l o s t r i d i u m.

Jak już wspomniano, ilości *Clostridium* znalezione przez nas w glebie poza zasięgiem korzeni były większe niż ilości azotobaktera w tym środowisku. W międzyrzędziach stosunek liczbowy azotobaktera do *Clostridium* wahał się w granicach od 1 : 50 do 1 : 300. W rizosferze natomiast wynosił on od 1 : 1 do około 1 : 700, a więc wahania te były o wiele szersze niż w samej glebie (tab. III).

Na ogół wszystkie spośród zbadanych roślin oddziaływały korzystnie na rozwój *Clostridium*. W zależności od nasilenia ich działania rośliny te można by podzielić na kilka grup. Największe ilości *Clostridium* znaleziono na korzeniach maku, gdzie było ich kilkanaście razy więcej niż poza zasięgiem korzeni. Również dodatni wpływ na rozwój tej bakterii wywierały: rzodkiewka, kukurydza, len, pszenica, łubin i konopie. W rizosferze tych roślin w różnych okresach ich rozwoju notowano po kilka razy więcej *Clostridium* niż w samej glebie, natomiast słabiej od nich oddziaływały na rozwój tej bakterii ze zbóż: proso, jęczmień i gryka, a z motylkowych: groch i wyka. Najsłabiej wpływał na rozwój *Clostridium* owies.

Wpływ stadium wegetacyjnego różnych roślin na rozwój *Clostridium* był mniej wyraźny niż na azotobaktera. W ciągu obu lat zauważono jednak, że niektóre rośliny, np. rzodkiewka, łubin, jęczmień, len i proso, stwarzają najbardziej sprzyjające warunki dla rozwoju *Clostridium* w okresie kwitnienia lub owocowania, inne natomiast (np. kukurydza

i konopie) stymulują mnożenie się *Clostridium* we wcześniejszych stadiach swego rozwoju.

Wydaje się, że rośliny pobudzające specjalnie silnie rozwój azotobaktera oddziałują też bardzo korzystnie na rozwój *Clostridium* (np. mak, rzodkiewka, łubin). Podobne wyniki uzyskała Rokitzka (cyt. wg Katznelsona i współpracowników 1948) w badaniach nad występowaniem azotobaktera i *Clostridium* w rizosferze różnych roślin.

Ogólne wnioski

Na podstawie wyników uzyskanych w latach 1956 i 1957 w badaniach nad wpływem 14 gatunków roślin uprawnych na rozwój azotobaktera i *Clostridium* (tab. I, II, III) można wyciągnąć następujące wnioski:

Azotobakter.

1. Rośliny wywierają na ogół duży wpływ na rozwój azotobaktera, przy czym wpływ ten zależy od gatunku roślin i od ich stadium rozwojowego.

2. Spośród zbadanych roślin najbardziej sprzyjały mnożeniu się azotobaktera w rizosferze: rzodkiewka, a w następnej kolejności: łubin, groch, mak, konopie i jęczmień. Słabo natomiast działały na rozwój tej bakterii: pszenica, kukurydza i proso. Żadnego działania nie wykazywał owies, a hamowała rozwój azotobaktera jedynie cebula.

3. Większość zbadanych roślin najsilniej stymulowała rozwój azotobaktera w okresie ich kwitnienia, lecz nie było to regułą.

Clostridium.

1. Wszystkie spośród zbadanych roślin oddziaływały też korzystnie na rozwój *Clostridium*. Wpływ ich rodzaju i stadium rozwojowego na rozwój *Clostridium* był jednak mniej silny niż wpływ na azotobaktera.

2. Rośliny pobudzające silnie rozwój azotobaktera stymulowały też silnie *Clostridium*.

Stosunek liczbowy azotobaktera do *Clostridium*.

1. Stosunki ilościowe między azotobakterem i *Clostridium* były w rizosferze bardziej dynamiczne (1 : 1 do 1 : 700) niż w międzyrzędziach (1 : 50 do 1 : 300), co świadczyłoby o wyraźnym oddziaływaniu roślin na te bakterie.

2. Poszczególne gatunki roślin rożnie wpływały na stosunek liczbowy między azotobakterem i *Clostridium*. Był on szeroki u pszenicy i kukurydzy, natomiast wąski u rzodkiewki, grochu, łubinu, maku, jęczmienia i konopi (tab. III).

Rozszerzanie się stosunku liczbowego między azotobakterem i *Clostridium* zaobserwowano u tych roślin, z których rizosfery wyodrębniono szczepy azotobaktera wytwarzające szczególnie dużo śluzu w hodowlach

Tabela I

Wpływ różnych roślin uprawnych na liczebność azotobactera w ich rizosferze

Influence of various crop plants on the development of *Azotobacter* in their rhizosphere

Nr	Rodzaj rośliny Kind of plant	Stadium rozwoju rośliny Stage of plant development	Liczebność azotobaktera Quantities of *Azotobacter* w tysiącach na 1,0 g suchej masy gleby in thousands per 1,0 g of dry soil			
			w międzyrzędziach in soil apart from roots		w rizosferze in the rhizosphere	
			1956	1957	1956	1957
1	Jęczmień *Hordeum Vulgare*	W	0,100	0,067	0,270	0,225
		P	0,080	0,087	0,150	0,190
		K	0,070	0,056	0,714	0,080
		O	0,078	0,040	1,070	0,890
		Z	0,043	0,053	0,100	0,162
2	Kukurydza *Zea mays*	W	0,095	0,075	0,269	0,200
		P	0,076	0,070	0,180	0,162
		K	0,055	0,052	0,118	0,090
3	Owies *Avena sativa*	W	0,090	0,054	0,110	0,120
		P	0,080	0,052	0,122	0,146
		K	0,062	0,050	0,125	0,111
		O	0,045	0,062	0,095	0,125
4	Proso *Panicum miliaceum*	W	0,076	0,080	0,113	0,097
		P	0,064	0,073	0,107	0,080
		K	0,080	0,050	0,240	0,187
		O	0,050	—	0,120	—
		Z	—	0,052	—	0,090
5	Pszenica *Triticum vulgare*	W	0,091	0,071	0,350	0,200
		P	0,070	0,061	0,367	0,260
		K	1,062	0,032	0,082	0,036
		O	0,058	0,053	0,075	0,040
		Z	0,040	0,063	0,117	0,136
6	Gryka *Fagopyrum esculentum*	W	0,091	0,065	0,236	0,200
		P	0,061	0,066	0,093	0,163
		K	0,083	0,076	0,126	0,120
		O	0,052	0,048	0,744	0,480
7	Konopie *Canabis sativa*	W	0,078	0,052	2,000	1,680
		P	0,055	0,075	0,490	0,600
		K	0,034	0,084	0,250	0,336
8	Len *Linum usitatissimum*	W	0,086	0,050	0,119	0,176
		P	—	0,056	—	0,182
		K	0,063	0,085	0,520	0,648
		O	0,040	0,050	0,490	0,633
9	Mak *Papaver somniferum*	W	0,092	0,100	0,195	0,230
		P	0,060	0,090	4,357	6,721
		K	0,046	0,050	15,000	16,670
10	Rzodkiewka *Raphanus sativus*	W	0,085	0,070	0,267	0,200
		P	0,086	0,055	2,180	2,450
		K	0,048	0,052	43,214	32,110
		O	0,035	0,040	25,850	32,200
11	Wyka *Vicia sativa*	W	0,096	0,083	0,178	0,186
		P	0,083	0,095	0,122	0,140
		K	0,048	0,082	0,060	0,090
		O	0,031	0,040	0,188	0,250
12	Łubin *Lupinus luteus*	W	0,094	0,072	0,338	0,550
		P	0,080	0,080	5,200	7,240
		K	0,062	0,075	1,930	3,000
		O	0,047	—	2,000	—
13	Groch *Pisum sativum*	W	0,071	0,080	0,167	0,200
		P	—	0,064	—	0,135
		K	0,095	0,080	0,285	0,220
		O	0,030	0,033	2,364	3,800
		Z	0,038	—	0,100	—
14	Cebula *Allium cepa*	W	0,069	0,074	0	0

Objaśnienia: — nie badano

Remarks: — not studied

W — Wczesne stadium wegetacyjne (Early stage of plant development)
P — Przed kwitnieniem (Before flowering)
K — Kwitnienie (Flowering)
O — Owocowanie (Maturity)
Z — Po zbiorze plonów (after collection of crops).

Tabela II

Wpływ różnych roślin uprawnych na liczebność *Clostridium* w ich rizosferze
Influence of various crop plants on the development of *Clostridium* in their rhizosphere

Nr	Rodzaj rośliny Kind of plant	Stadium rozwoju rośliny Stage of plant development	Liczebność *Clostridium* Quantities of *Clostridium* w tysiącach na 1,0 g suchej masy gleby in thousands per 1,0 g of dry soil			
			w międzyrzędziach in soil apart from roots		w rizosferze in the rhizosphere	
			1956	1957	1956	1957
1	Jęczmień *Hordeum vulgare*	W	9,5	8,8	14,3	12,0
		P	10,2	9,2	17,0	12,8
		K	10,0	10,0	19,2	18,1
		O	8,5	9,0	17,1	28,2
		Z	9,7	11,0	20,2	35,8
2	Kukurydza *Zea mays*	W	8,0	9,4	52,5	66,6
		P	7,0	9,0	45,7	32,5
		K	9,2	8,8	21.0	18.0
3	Owies *Avena sativa*	W	9,2	8,0	18.0	12,4
		P	10,1	9,2	16,5	14,2
		K	10,5	12,0	16,0	22,8
		O	8,0	9,0	9,2	8,1
4	Proso *Panicum miliaceum*	W	11,6	12,3	18,0	20,0
		P	12,5	11,6	19,5	19,0
		K	8,4	10,9	23,4	26,8
		O	8,0	—	15,0	—
		Z	—	12,0	—	36,2
5	Pszenica *Triticum vulgare*	W	11,3	12,2	25,2	26,2
		P	10,0	9,2	19,3	20,0
		K	13,0	10,0	26,2	22,4
		O	11,0	7,4	25,4	29,6
		Z	11,7	10,0	29,8	37,5
6	Gryka *Fagopyrum esculentum*	W	7,8	8,4	18,6	20,4
		P	8,2	9,6	13,1	16,2
		K	9,8	9,6	20,9	10,2
		O	9,0	8,8	27,3	22,0
7	Konopie *Canabis sativa*	W	11,2	9,2	33,6	40,0
		P	9,7	11,0	24,2	20,0
		K	8,3	10,0	18,8	16,4
8	Len *Linum usitatissimum*	W	9,9	9,6	25,0	30,0
		P	10,5	9,6	30,2	45,0
		K	9,6	10,0	45,0	66,1
		O	9,0	8,8	40,0	60,0
9	Mak *Papaver somniferum*	W	8,2	10,4	32,8	40,0
		P	10,0	11.2	85,6	100,0
		K	9,4	9,3	125,1	136,2
10	Rzodkiewka *Raphanus sativus*	W	11,8	9,2	31,0	24,0
		P	9,2	10,4	30,0	23,5
		K	8,0	8,4	71,2	60,0
		O	8,6	9,0	55,5	42,7
11	Wyka *Vicia sativa*	W	10,3	10,6	16,3	15,7
		P	12,3	9,4	17,0	12,0
		K	13,2	12,8	16,0	15,2
		O	9,0	8,8	20,4	34,0
12	Łubin *Lupinus luteus*	W	11,0	9,3	18,7	15,0
		P	11,5	10,0	37,2	38,0
		K	9,0	9,2	41,0	28,0
		O	9,8	—	62,8	—
13	Groch *Pisum sativum*	W	11,3	9,6	30,0	24,0
		P	9,3	8,2	27,2	19,4
		K	8,4	9,6	23,4	28,0
		O	10,0	8,8	26,8	20,0
		Z	10,5	—	28,9	—
14	Cebula *Allium cepa*	W	—	—	—	—

Objaśnienia: — nie badano
Remarks: — not studied

W — Wczesne stadium wegetacyjne (Eearly stage of plant development)
P — Przed kwitnieniem (Before flowering)
K — Kwitnienie (Flowering)
O — Owocowanie (Maturity)
Z — Po zbiorze plonów (after collection of crops).

Tabela III

Stosunek liczbowy azotobaktera do *Clostridium*
Relation of *Azotobacter* to *Clostridium*

Nr	Rodzaj rośliny Kind of plant	Stadium rozwoju rośliny Stage of plant development	Stosunek liczbowy azotobaktera do *Clostridium* Relation of *Azotobacter to Clostridium*			
			w międzyrzędziach in soil apart from roots		w rizosferze in the rhizosphere	
			1956	1957	1956	1957
1	Jęczmień *Hordeum vulgare*	W	1:95	1;130	1:52	1:53
		P	1:129	1:105	1:113	1:67
		K	1:143	1:180	1:26	1:17
		O	1:110	1:225	1:16	1:32
		Z	1:225	1:208	1:202	1:221
2	Kukurydza *Zea mays*	W	1:84	1:125	1:104	1:333
		P	1:92	1:130	1:254	1:203
		K	1:167	1:160	1:185	1:200
3	Owies *Avena sativa*	W	1:102	1:65	1:120	1:103
		P	1:226	1:180	1:138	0:97
		K	1:175	1:240	1:130	1:116
		O	1:177	1:145	1:96	1:65
4	Proso *Panicum miliaceum*	W	1:152	1:154	1:163	1:206
		P	1:200	1:160	1:182	1:240
		K	1:159	1:218	1:97	1:146
		O	1:160	—	1:125	—
		Z	—	1:231	—	1:402
5	Pszenica *Triticum vulgare*	W	1:125	1:174	1:72	1:131
		P	1:143	1:153	1:52	1:80
		K	1:216	1:133	1:318	1;622
		O	1:183	1:140	1:340	1:740
		Z	1:252	1:160	1:250	1:275
6	Gryka *Fagopyrum esculentum*	W	1:86	1:130	0:70	1:102
		P	1:137	1:145	1:141	1:100
		K	1:122	1:126	1:165	1:85
		O	1:120	1:174	1:37	1:44
7	Konopie *Canabis sativa*	W	1:140	1:184	0;17	1:23
		P	1:176	1:146	0:47	1:33
		K	1:224	1:120	0:72	1:49
8	Len *Linum usitatissimum*	W	1:115	1:192	1:208	1:400
		P	—	1:171	—	1:250
		K	1:160	1:117	1:86	1:101
		O	1:225	1:176	1:80	1:94
9	Mak *Papaver somniferum*	W	1:91	1:104	1:168	1:170
		P	1:166	1:124	1:19	1:14
		K	1:204	1:186	1:8	1:8
10	Rzodkiewka *Raphanus sativus*	W	1:138	1:131	1:114	1:120
		P	1:167	1:181	1:13	1:9
		K	1:160	1:168	1:2	1:1
		O	1:246	1:225	1:2	1:1
11	Wyka *Vicia sativa*	W	1:107	1:132	1:90	1:82
		P	1:154	1:100	1:141	1:84
		K	1:264	1:160	1:266	1:167
		O	1:300	1:220	1:107	1:136
12	Łubin *Lupinus luteus*	W	1:116	1:133	1:155	1:27
		P	1:144	1:125	1:7	1:5
		K	1:150	1:122	1:22	1:9
		O	1:208	—	1:31	—
13	Groch *Pisum sativum*	W	1:169	1:120	1:176	1:120
		P	—	1:128	—	1:143
		K	1:88	1:120	1:80	1:127
		O	1:333	1:296	1:11	1:5
		Z	1:262	—	1:289	—
14	Cebula *Allium cepa*	W	—	—	—	—

Objaśnienia: — nie badano

Remarks: — not studied

W — Wczesne stadium wegetacyjne (Eearly stage of plant development)
P — Przed kwitnieniem (Before flowering)
K — Kwitnienie (Flowering)
O — Owocowanie (Maturity)
Z — Po zbiorze plonów (after collection of crops).

in vitro. Szczepy takie wyodrębniono właśnie z rizosfery pszenicy i kukurydzy. Wytwarzany przez nie śluz ograniczał prawdopodobnie dostęp tlenu do rizosfery. Stwarzało to zapewne warunki korzystne dla rozwoju beztlenowego *Clostridium*.

3. Wpływ stadium rozwojowego roślin na stosunek liczbowy azotobaktera do *Clostridium* był mało wyraźny. Dało się jednak zauważyć, że w ciągu obu lat badań stosunek liczbowy azotobaktera do *Clostridium* zwężał się w okresie kwitnienia i owocowania u takich roślin, jak: len, mak, rzodkiewka, łubin i groch.

W przyszłości należałoby rozszerzyć niniejszą pracę m. in. przez zbadanie właściwości morfologicznych i fizjologicznych wyodrębnionych asymilatorów wolnego azotu, uwzględniając ich pochodzenie z rizosfery różnych roślin.

LITERATURA

Balicka N., 1951: Niektóre zagadnienia z dziedziny oddziaływania roślin wyższych na drobnoustroje. *Post. Wiedzy Roln.*, **1** : 125.

Balicka N., 1952a: Wpływ siewu mieszanego koniczyny z tymotką na mikroflorę ich rizosfery. *Acta Microbiol. Polon.*, **1** : 58.

Balicka N., 1952b: Wyniki badań własnych nad rizosferą roślin uprawnych. *Post. Wiedzy Roln.*, **4** : 30.

Balicka N., 1952c: O bakterioryzie. *Post. Wiedzy Roln.*, **2** : 61.

Bierezowa E. F., 1950: Wzaimootnoszenije rastienij s mikrofłoroj poczwy. *Agrobiołogija*, **5** : 73.

Bierezowa E. F., 1956: Wzaimoswjaz rastienij s mikrofłoroj ich korniewoj sistiemy. *Agrobiołogija*, **6** : 22.

Bierezowa E. F., i Rempe E. X., 1953: Bakteriostaticzeskije wieszczestwa kak faktor regulirowanija mikroflory w korniewoj sistiemie rastienij. *Trudy Wsjesojuz. Naucz.-isld. Inst. siel. -choz. mikrobioł.*, **13** : 87.

Bukatsch F., 1956: Zur Analyse der Bakterienhemmstoffe aus der Wurzel vom Schöllkraut und ähnlichen Pflanzen, *Archiv Mikrob.*, **24** : 281.

Clark F., 1949: Soil Microorganisms and Plant Roots. *Adv. Agronomy. Academic Press, New York.*

Daste, 1950: *Rev. gen. botan.*, 57 : 685. Według Lochhead A. G. Soil Microbiology. *Annual Rev. Microb.*, **6** : 185.

Dobrzańska A., 1955: Mikroflora gleb w płodozmianie Wiliamsa. *Annales UMCS. Sectio E.*, **7** : 221.

Fiodorow M. W. i Tieppier E. Z., 1947: Ob usłowijach opriedjelajuszczich priżiwajemost azotobaktiera w rizosfierje sielsko-choziajstwiennych rastienij i w poczwie. *Mikrobiołogija*, **16** : 6.

Fiodorow M. W. i Niepomiłujew E. Z., 1954: Razprostranienije i azotofiksirujuszczaja aktiwnost azotobaktiera w rizosfierie mnogoljetnich traw. *Mikrobiołogija*, **23** : 276.

Heller I. A. i Chariton E. G., 1951: Azotobaktier w poczwie trawopolnowo siewooborota. *Mikrobiołogija*, **20** : 2.

Jensen H. L. i Swaby R. J., 1940: *Proc. Linnean Soc. N. S. Wales*, **65** : 557, (wg Clark F., 1949).

Katznelson H, 1946: The rhizosphere effect of mangles on certain groups of soil microorganisms. *Soil Sci.*, **62** : 343.

Katznelson H., Lochhead A. G. and Timonin M. I., 1948: Soil microorganisms and the rhizosphere. *Botan. Rev.*, **14** : 543.

Katznelson H., Rouatt J. W. and Payne T. M. B., 1956: Recent studies on the microflora of the rhizosphere. *IV^e Congr. Int. Sci. Sol. Vol.* C : 151. *Paris.*

Krasilnikow N. A., 1944a: Wlijanije rastitielnowo pokrowa na mikrobnyj sostaw w poczwie. *Mikrobiołogija*, **13** : 5.

Krasilnikow N. A., 1944b: Baktierjalnaja masa rizosfiery rastienij. *Mikrobiołogija*, **13** : 144.

Lochhead A. G., 1940: Qualitative studies of soil microorganisms. III. Influence of plant growth on the character of the bacterial flora. *Canad. J. Res.*, **18** : 42.

Lochead A. G., 1947 a: The bacterial equilibrium in soil with special reference to plant growth. *C. R. IV Int. Congress Microb.* Copenhagen.

Lochhead A. G., and Thexton R. H., 1947b: Qualitative studies of soil microorganisms. VII. „The rhizosphere effect" in relation to the amino acid nutrition of bacteria. *Canad. J. Res.*, **25** : 20.

Maliszewska W., 1949: Charakterystyka mikrobiologiczna gleb majątków naukowo-doświadczalnych Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. *Annales UMCS. Sectio E.*, **4** : 37.

Maliszewska W., 1952: Charakterystyka mikrobiologiczna gleb z doświadczeń statycznych w Gołębiewie. *Acta Microbiol. Polon.*, **1** : 123.

Mieszkow H. B., 1952: Wieszczestwa aktiwirujuszczije rost mikroorganizmow w korniewych wydielenijach rastienij. *Żurnał obszcz. biot.*, **12** : 76.

Starkey R. L., 1929: Influence of the development of higher plants upon the microflora in the soil. *Soil Sci.*, **27** : 312 i 355.

Szełoumowa A. M. i Sztucjer J. M., 1947: Azotobaktier i korniewaja sistiema rastienij. *Sowięckaja agronomija*; 5.

Wallace R. H. i Lochhead A. G., 1949: Qualitative studies of soil microorganims: VIII. Influence of various crop plants on the nutritional groups of soil bacteria. *Soil. Sci.*, **67** : 63.

Wallace R. H. and Lochhead A. G., 1950: Qualitative studies of soil microorganisms: IX. Amino-acids requirements of rhizosphere bacteria. *Canad. J. Res.*, **28** : 1.

West P. M. and Lochhead A. G., 1940: Qualitative studies of soil microorganisms: IV. The rhizosphere in relation to the nutritive requirements of soil bacteria. *Canad. J. Res.*, **18** : 129.

Wozniakowska J. M., 1948: Wlijanije korniewoj sistiemy pszenicy na mikrofłoru poczwy. *Microbiołogija*, **17** : 458.

Ziemięcka J., 1950: Bakterie rizosfery. *Post. Wiedzy Roln.* **1-2** : 91.

Ziemięcka J., 1953: Wpływ siedliska na drobnoustroje glebowe. *Kosmos*, **1** : 4.

Ziemięcka J. i Maliszewska W., 1956: L'Occurence des azotobacters dans la rhizosphère des différentes plantes et leurs relations mutuelles. *IV^e Congr. Int. Sci. du Soil. C* : 367. Paris.

E. Strzelczyk

INFLUENCE OF VARIOUS CROP PLANTS ON THE DEVELOPMENT OF AZOTOBACTER AND *CLOSTRIDIUM* IN THEIR RHIZOSPHERE

Summary

The aim of this work was to investigate the influence of different crop plants on the quantities of *Azotobacter* and *Clostridium* in their rhizosphere. In the years 1956 and 1957 field experiments with 14 different plants were performed on loess of *pH* about 7,0. No fertilizers were used. Microbiological analyses were carried out at 4 different stages of development of the plants: at the early stage of development, before flowering, during flowering, and the maturity. The influence of some plants on the development of *Azotobacter* and *Clostridium* after the harvest was investigated.

The results of the investigations show the favourable influence of the plants on the development of *Azotobacter* and *Clostridium*. This influence was different for various kinds of plants and the stage of their development. Radish, poppy, lupine, pea and barley mostly stimulated the development of *Azotobacter*, oats, on the other hand, showed no influence and the onion inhibited its development completely. Generally, *Azotobacter* found most favourable conditions on roots during the flowering stage.

All investigated plants had a favourable influence on the development of *Clostridium*. Plants which stimulated the development of *Azotobacter* did the same with *Clostridium*. The influence of stage of development of different plants on *Clostridium* was smaller than that one on *Azotobacter*.

ACTA MICROBIOLOGIA POLONICA
1958, 7, 125—130

E. Malińska i *Z. Pędziwilk*

BADANIA NAD WYTWARZANIEM I SKŁADEM KOBALAMIN U BAKTERII Z RODZAJU *RHIZOBIUM*

Część II

Z Katedry Mikrobiologii Rolnej Wyższej Szkoły Rolniczej w Poznaniu

Wpłynęło dnia 30 marca 1958 r.

W pierwszej części pracy (Kaszubiak, Malińska i Pędziwilk, 1957) zajmowaliśmy się badaniem kobalamin wytwarzanych przez *Rhizobium meliloti*. Stwierdziliśmy, że wszystkie szczepy *Rhizobium meliloti* dawały ilości kobalamin mieszczące się w granicach podawanych przez Burton i Lochheada (1952). Ponadto wykazaliśmy metodami rozdzielania elektroforetycznego i chromatograficznego, że w skład kobalamin wytwarzanych przez *Rhizobium meliloti* wchodzi głównie witamin B_{12} (5, 6-dwumetylobenzimidazolocyjanokobalamina) oraz tzw. czynnik *A* (2-metyloadeninocyjanokobalamina) i tzw. czynnik *B* (deznukleotydocyjanokobalamina) w ilościach śladowych. Nie znaleźliśmy żadnej korelacji między ilością azotu ogólnego a ilością kobalamin w komórkach badanych szczepów.

W niniejszym doniesieniu podajemy wyniki analogicznych badań nad występowaniem i składem kobalamin u gatunków *Rhizobium trifolii* i *Rhizobium lupini*. Według danych innych autorów (Burton i Lochhead, 1952) gatunki te w porównaniu z *Rhizobium meliloti* są znacznie mniej wydajne pod względem wytwarzania kobalamin. W naszych badaniach chodziło o stwierdzenie, czy jakościowy skład kobalamin u tych gatunków będzie zgodny z wynikami badań nad kobalaminami wytwarzanymi przez *Rhizobium meliloti*.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Izolacja szczepów *Rhizobium trifolii* i *Rhizobium lupini*.

Szczepy bakterii *Rhizobium* izolowano z brodawek koniczyny i łubinu metodą podaną przez Allena (Allen, 1953). Izolację i identyfikację bakterii przeprowadzano na podłożach: Smith-Leonarda (Leonard, 1951), Sagena (Sagen, 1934) oraz na pożywce mannitolowej z dodatkiem błękitu bromotymolowego (Allen, 1953).

Czystość kultur i ich specyficzność sprawdzano metodą zakażania badanymi szczepami jałowych kiełków koniczyny i łubinu i wytwarzaniem brodawek na korzeniach roślin. Szczepy przechowywano na pożywce mannitolowej o składzie: mannitol 1% K_2HPO_4 0,05%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,02%, NaCl 0,01%, $CaCO_3$ 0,3%, woda drożdżowa (10-procentowy roztwór) 100 ml na litr pożywki, agar 1,5%.

Kobalaminy u *Rhizobium trifolii*

Podobnie jak w badaniach poprzednich, natknęliśmy się na zasadnicze trudności z ustaleniem właściwej pożywki, która zapewniłaby dostateczny wzrost bakterii oraz dałaby kulturę o małej ilości śluzu. Zastosowana początkowo pożywka z dużą ilością wyciągu drożdżowego, której używano do hodowli *Rhizobium meliloti*, dała wprawdzie dobry wzrost *Rhizobium trifolii*, ale o tak dużej ilości śluzu, że nie można było odwirować komórek nawet przy 30 tys. obrotów na minutę (wirówka Sharplessa), co uniemożliwiło posługiwanie się tym podłożem. Próba wykorzystania wysokowartościowego namoku kukurydzy z dodatkiem małych ilości wyciągu drożdżowego również zawiodła dając minimalny wzrost bakterii. Spośród szeregu różnych pożywek najlepsza okazała się następująca pożywka:

	%
K_2HPO_4	0,1
$MgSO_4$	0,02
NaCl	0,1
$CaCl_2$	0,01
$MnSO_4$	0,001
$FeSC_4$	0,001
$CoCl_2$	0,0008
wyciąg z koniczyny	50,0
woda drożdżowa (roztwór 10-procentowy)	10,0
glikoza	1,0

pH 7,2

Hodowlę bakterii prowadzono 5 dni w temperaturze 28°.

Badania na obecność witaminu przeprowadzono metodami mikrobiologicznymi stosując jako organizmy testowe *Euglena gracilis var. bacillaris* (Heinrich, Lahann, 1953) i *Ochromonas malhammensis* (Ford, 1953). Różnice w ilościach kobalamin występujące między naszymi oznaczeniami a badaniami Burton mogą wynikać z właściwości szczepowych badanych bakterii, a ponadto należy uwzględnić fakt, że organizmy testowe reagują na różne frakcje kobalamin. Stosując szczep *Ochromonas malhammensis* uzyskaliśmy niższe wyniki aniżeli z *Euglena gracilis*, gdyż *Ochromonas* reaguje tylko na witamin B_{12}. W tabeli I podajemy wyniki oznaczeń kobalamin metodami mikrobiologicznymi przeprowadzonymi przez nas przy pomocy *Euglena gracilis* i *Ochromonas malhammensis* oraz przez Burton przy pomocy *Lactobacillus leichmannii*.

Tabela I

Ilość kobalamin u *Rhizobium trifolii* oznaczana metodami mikrobiologicznymi
Content of cobalamins in *Rhizobium trifolii* cultures (determined by biological tests)

Badania własne Authors' results			Badania Burton i Lochheada Results of Burton and Lochhead	
Nr szczepu Strain No	Kobalamin w 1 ml hodowli w mμg Mμg of cobalamins per 1 ml of culture fluid		Nr szczepu Strain No	Kobalamin w 1 ml hodowli w mμg mμg of cobalamins per 1 ml of culture fluid
	Euglena gracilis	*Ochromonas malhammensis*		*Lactobacillus leichmanii*
12	11,25	8,0	174	8,2
14	20,00	10,00	310	32,00
15	5,00	1,00	761	82,00
16	8,75	1,40	764	1,60
			90	140,00

Celem uzyskania podłoża do ekstrakcji chemicznej użyto jednego z bardziej wydajnych szczepów.

Próba wyodrębnienia kobalamin metodą chemiczną przez zastosowanie ekstrakcji nie dała wyniku ze względu na zbyt małą ilość kobalamin uzyskanych z maksymalnych ilości hodowli w naszych warunkach (10 l hodowli). Na skutek tego nie zdołaliśmy przeprowadzić rozdzielenia elektroforetycznego kobalamin. Zasadnicze różnice między oznaczeniami za pomocą eugleny i *Ochromonas* wskazują na obecność kobalamin u *Rhizobium trifolii.*

KOBALAMINY U *RHIZOBIUM LUPINI*

Silny wzrost *Rhizobium lupini* uzyskiwano na pożywce o składzie:

	%
K_2HPO_4	0,1
$MgSO_4$	0,02
NaCl	0,1
$CaCl_2$	0,01
$MnSO_4$	0,001
$FeSC_4$	0,001
$CoCl_2$	0,0008
wyciąg z łubinu	50,0
woda drożdżowa (roztwór 10-procentowy)	30,0
glikoza	1,0

pH 7,2

Hodowlę przerywano już po 4 dniach inkubacji w temperaturze 28°, gdyż wstępne badania wykazały, że po dłuższym okresie hodowli następuje brunatnienie i opadanie komórek z równoczesnym zmniejszaniem się wydajności kobalamin. Czterodniowa hodowla zawierała niewielkie ilości śluzu, który nie utrudniał odwirowania masy komórek. W tabeli II podano wyniki badań mikrobiologicznych zawartości kobalamin u *Rhizobium lupini*.

Tabela II

Ilość kobalamin u *Rhizobium lupini* oznaczana metodami mikrobiologicznymi
Content of cobalamins in cultures of *Rhizobium lupini*

Badania własne Authors' results			Badania Burton i Lochheada Results of Burton and Lochhead	
Nr szczepu Strain No	Kobalamin w 1 ml hodowli w mμg Mμg of cobalamins per 1 ml of culture fluid		Nr szczepu Strain No	Kobalamin w 1 ml hodowli w mμg Mμg of cobalamins per 1 ml of culture fluid
	Euglena gracilis	*Ochromonas malhammensis*		*Lactobacillus leichmanii*
1	20,00	10,00	221	9,6
3	20,00	4,50	583	0,8
10	24,00	10,00	586	0,4
25	20,00	5,70	766	9,5
27	50,00	35,00	767	0,3
28	50,00	45,00	801	2,3

Kobalaminy ekstrahowano z komórek metodą omawianą w pracy poprzedniej (Kaszubiak, Malińska, Pędziwilk, 1957) i oznaczano ilościowo na spektrofotometrze (Unicam typ SP 500) przy długości fali 550 mμ. Ilość witaminów oznaczona tą metodą wynosiła maksymalnie 47 mμg na ml hodowli. Badania elektroforetyczne kobalamin wyizolowanych z *Rhizobium lupini* wykazały, że kobalaminy te, porównywane ze standardowymi kobalaminami, posiadały szybkość jonoforetyczną równą szybkości następujących kobalamin: krystalicznej 5,6-dwumetylobenzimidazolocyjanokobalaminy (witamin B_{12}), 2-metyloadeninocyjanokobalaminy (tzw. czynnik *A*) oraz deznukleotydocyjanokobalaminy (tzw. czynnik *B*). Oznaczona na spektrofotometrze ilość kobalamin odnosiła się prawie wyłącznie do witaminu B_{12}, gdyż czynnik *A* i czynnik *B* występował w ilościach śladowych, a 5,6-dwumetylobenzimidazolocyjanokobalamina stanowiła zasadniczy składnik kobalamin.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przedstawione powyżej badania nad obecnością i składem kobalamin u *Rhizobium trifolii* i *Rhizobium lupini* wykazały, że szczepy *Rhizobium trifolii* wytwarzają śladowe ilości kobalamin. Wykryto je tylko metodami mikrobiologicznymi. Ze względu na małe ilości nie udało się rozdzielić ich w naszej pracy na drodze chemicznej.

Kultury *Rhizobium lupini* wykazywały znacznie wyższy poziom kobalamin, bo według oznaczeń chemicznych dochodzący do 47 mμg na ml hodowli. Kobalaminy te badane spektrofotometrycznie i elektroforetycznie okazały się identyczne z krystalicznym witaminem B_{12}, czynnikiem A i czynnikiem *B*. Wobec tego, że w pracy poprzedniej, w której badaliśmy wytwarzanie i skład kobalamin w kulturach *Rhizobium meliloti*, stwierdziliśmy obecność czynnika *A* i czynnika *B* towarzyszących witaminowi B_{12} podobnie jak u *Rhizobium lupini*, można przypuszczać, że wszystkie *Rhizobium* mają zdolność wytwarzania kobalamin od ilości śladowych do ilości rzędu 1000 mμg (Burton i Lochhead, 1952). Wniosek ten potwierdzają badania Dudy (Duda i inni, 1957) i Robbinsa (Robbins i inni, 1950), którzy stwierdzili duże ilości w brodawkach a niewielkie ilości lub brak kobalamin w innych częściach roślin. W porównaniu z bakteriami produkującymi kobalaminy w dużych ilościach, jak np. *Propionibacterium*, wytwarzającymi około 10 mg witaminu na litr hodowli (Pawełkiewicz, Zodrow, 1958) rodzaj *Rhizobium* jest pod tym względem wielokrotnie mniej wydajny. Nasze badania nad składem kobalamin wytwarzanych przez *Rhizobium* wskazują na to, że jest on zbliżony do składu kobalamin wytwarzanych przez inne drobnoustroje, jak np. *Propionibacterium shermanii* z tym, że *Rhizobia* wytwarzają czynnik *A* i czynnik *B* tylko w ilościach śladowych.

Kierownikowi Katedry Mikrobiologii Rolnej Wyższej Szkoły Rolniczej w Poznaniu, doc. drowi Józefowi Dudzie składamy serdeczne podziękowanie za cenne rady i uwagi udzielane w czasie wykonywania i opracowywania wyników naszych badań.

LITERATURA

Allen O. N., 1953: Experiments in soil bacteriology. II, Burgess Publishing Co., Minneapolis.

Burton M. O. a. Lochhead A. G., 1952: Production of Vitamin B_{12} by *Rhizobium sp., Canad. J. Bot.*, **30** : 521.

Duda J., Pędziwilk Z., Zodrow K., 1957: Badania nad występowaniem witaminu B_{12} u roślin motylkowych. *Acta Microbiol. Polon.*, **6** : 233.

Ford J. E., 1953: The microbiological assey of vitamin B_{12}. The specifity of the requirement of *Ochromonas malhammensis* for cyanocobalamin., *Brit. J. Nutrit.*, **7** : 299.

Heinrich H. C., Lahann H., 1953: Die mikrobiologische Bestimmung der B_{12} Vitamine mit der Grünalge *Euglena gracilis* (*var. bacillaris.*) *Z. Naturforsch.* **8** b : 549.

Kaszubiak H., Malińska E., Pędziwilk Z., 1957: Badania nad wytwarzaniem i składem kobalamin u *Rhizobium meliloti*. *Acta Microbiol. Polon.*, **6** : 239.

Leonard L., 1931: *J. Bact.* **21** : 35 (wg Allen 1953).

Pawełkiewicz J., Zodrow K., Patent P.R.L. nr P. 84. 431.

Robbins W. J., Hervey A. a. Stebbins M. E., 1950: Studies on *Euglena* and vitamin B_{12}. *Bull. Torrey Botan. Club.* **77** : 423.

Sagen L., 1934: *J. Bact.*, **28** : 571 (wg Allen 1953).

E. Malińska and *Z. Pędziwilk*

STUDIES ON SYNTHESIS AND COMPOSITION OF COBALAMINS IN *RHIZOBIUM*. PART II

Strains of *Rh. trifolii*, isolated from the root-nodules, were found to be able to synthesize of cobalamins. The examined strains produced from 5 mμg to 20 mμg of cobalamins per 1 ml of culture medium. The produced compounds were identified by microbiological methods with *Euglena gracilis* and *Ochromonas malhammensis* as test organisms. The chemical identification was impossible due to too small amount of preparations obtained. Results are summarized in Table I.

Strains of *Rh. lupini* produced relatively greater amount of cobalamins (20—50 mμg per 1 ml of culture-medium). It was shown by paper-electropthoresis method, that *Rh. lupini* synthesised almost exclusively 5,6-dimethylbenzimidazolcyanocobalamin (vitamin B_{12}) and only traces of factor *A* (2-methyladenincyanocobalamin) and factor *B* (desnucleotidocyanocobalamin). (Table II).

The composition of cobalamins produced by *Rh. trifolii* and *Rh. lupini* is similar to that of cobalamins of *Rh. meliloti* (Kaszubiak, Malińska, Pędziwilk 1957).

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA
1958, 7, 131—138

B. Kaniuga i *A. Blechert*

PRÓBY BILANSU SACHAROZY W FERMENTACJI DEKSTRANOWEJ PROWADZONEJ PRZY POMOCY SZCZEPU *LEUCONOSTOC MESENTEROIDES „L"*

Z Zakładu Technologii Fermentacji Przemysłowych Instytutu Przemysłu Fermentacyjnego w Warszawie

Doniesienie I

Wpłynęło dnia 15 kwietnia 1958 r.

Powstawanie dekstranu z sacharozy pod wpływem działania bakterii z rodzaju *Leuconostoc* przebiega według następującej reakcji:

$$n(C_{12}H_{22}O_{11}) \rightarrow (C_6H_{10}O_6)n + n(C_6H_{12}O_6)$$

sacharoza dekstran fruktoza

W rzeczywistości reakcja przebiega w sposób bardziej złożony, przy czym powstają produkty uboczne, na wytworzenie których bakterie mogą zużywać cukry proste, a więc zarówno uwolnioną fruktozę, jak i glikozę, zanim zostanie spolimeryzowana na dekstran. Jako produkty tych przemian mogą powstawać: kwas mlekowy, kwas octowy, etanol, mannitol, glicerol i CO_2 (Giglio i McCleskey 1953, Goddman, Weil i Stern 1955, Willenberg 1953).

Obok dekstranu może się tworzyć pewna ilość innych polisacharydów, pochodnych zarówno fruktozy, jak i glikozy, złożonych z dwóch, trzech i większej ilości cukrów prostych (Bailer i współpracownicy 1957, Wise i współpracownicy 1955). Jakość i ilość wytwarzanych produktów zależy od własności użytego szczepu oraz od warunków biosyntezy.

Badania Kosińskiego (1955) nad zawartością produktów ubocznych powstających podczas fermentacji prowadzonej przy pomocy szczepu „*L*" wykazały obok dekstranu pewne ilości kwasu mlekowego i kwasów lotnych, różne w poszczególnych fermentacjach. Dane z 9 prób, wyrażone w procentach użytej sacharozy, wykazują zawartość kwasu mlekowego od 0,005 do 0,03, kwasów lotnych (w przeliczeniu na kwas

octowy) od 0,001 do 0,004. W próbach tych wykazano obecność glikozy w ilościach śladowych, natomiast brak dwutlenku węgla, mannitolu, etanolu i glicerolu.

Ze względu na małą ilość produktów ubocznych, do obliczenia wydajności dekstranu stosowaliśmy metodę pośrednią, polegającą na stechiometrycznym obliczeniu dekstranu z ilości powstałej fruktozy. Jest to — jak dotąd — najszybsza metoda kontroli produkcji (K o e p s e l l i współpracownicy 1955, M a ń s k i i współpracownicy 1953, T s u c h i y a i współpracownicy 1952). Na podstawie 70 prób stwierdziliśmy, że metodą tą można z dokładnością do 5% określić wydajność dekstranu w przeliczeniu na ilość użytej sacharozy. W nielicznych jednak przypadkach, zarówno w próbach półtechnicznych, jak i laboratoryjnych, istniały wyraźne rozbieżności między ilością w rzeczywistości powstałego dekstranu, a jego ilością obliczoną na podstawie znalezionej fruktozy.

W celu wyjaśnienia tego zjawiska przeprowadzono szereg prób bilansu sacharozy w fermentacjach dekstranowych, prowadzonych przy pomocy *Leuconostoc mesenteroides* szczep „*L*".

Dla zbilansowania sacharozy obok cukrów i dekstranu oznaczano kwas mlekowy jako przypuszczalnie jedyny produkt uboczny, wytwarzany w większych ilościach, który może powstać z glikozy lub fruktozy.

BADANIA WŁASNE

METODYKA

Fermentacje prowadzone były w skali laboratoryjnej bądź półtechnicznej, co zaznaczano przy zestawieniu wyników w tablicy. W skali laboratoryjnej fermentację prowadzono w kolbach szklanych o pojemności 500 ml. Ilość brzeczki wynosiła 200 ml + 10 ml szczepionki. W skali półtechnicznej fermentację prowadzono w fermentorach ze stali nierdzewnej. Ilość brzeczki wynosiła 450 l + 33 l szczepionki. Temperatura w czasie fermentacji utrzymywała się od 18° do 22°.

Okres fermentacji wynosił 3,5 doby. Skład brzeczki przygotowany do fermentacji, wyrażony w procentach wagowych dodawanych substancji był następujący:

sacharoza	—	10,00
KH_2PO_4	—	0,1
$Na(NH_4)HPO_4$	—	0,3
KCl	—	0,1
$Mg\,SO_4$	—	0,01
$Mn\,Cl_2$	—	0,001
H_2SO_4	—	0,0166 % obj.
autolizat drożdżowy	—	0,025—0,05 % obj.

Oprócz tego stosowana szczepionka zawierała:

$(NH_4)_6\,Mo_7\,O_{24}$	—	0,0005 % wag.
autolizatu	—	0,1 % obj.

Zmierzając do zbilansowania sacharozy użytej do fermentacji na podstawie ilości produktów powstałych po fermentacji, w niniejszej pracy oznaczano w zacierze natychmiast po zaszczepieniu: zawartość sacharozy, cukrów redukujących i dekstranu wprowadzonych wraz ze szczepionką, oraz kwasowość ogólną, pochodzącą z dodanego do zacieru kwasu siarkowego.

Po zakończonej fermentacji oznaczano ilość pozostałej sacharozy, cukry redukujące, dekstran oraz kwasowość ogólną.

Ze względu na niewielką ilość kwasów lotnych nie oznaczano ich oddzielnie, a kwasowość ogólną wyrażano jako kwas mlekowy. Z tych samych względów nie oznaczano glikozy, a substancje redukujące wyrażano jako fruktozę.

OZNACZANIE CUKRÓW (SACHAROZY I FRUKTOZY)

Fruktozę oznaczano bezpośrednio, a sacharozę po inwersji metodą Luffa-Schoorla (Struszyński 1950). Metoda ta polega na utlenieniu cukrów redukujących przy pomocy miedzi dwuwartościowej. Nadmiar niezredukowanej miedzi oznacza się jodometrycznie. Przygotowanie próby polegało na bezpośrednim rozcieńczeniu 20 g brzeczki do 1 l, bez uprzedniego wytrącania dekstranu. Dekstran w takim rozcieńczeniu nie kompleksuje miedzi, co zostało sprawdzone na próbach z czystą fruktozą i czystym dekstranem oraz metodą pikrynianową.

OZNACZANIE DEKSTRANU

Dekstran oznaczano dwoma metodami: wagową i antronową (Scott i Melwin, 1953).

Metoda wagowa polega na wytrąceniu z brzeczki głównej frakcji dekstranu etanolem w stosunku 1 : 1 oraz pozostałych niskocząsteczkowych frakcji etanolem o stężeniu 90% obj. Wytrącony dekstran suszono do stałego ciężaru w temperaturze 50° pod zmniejszonym ciśnieniem. Dekstran taki zawiera jeszcze około 7% wody, co było sprawdzone poprzednio metodą K. Fichera (Kaniuga, 1957). Przez suszenie dokładnie rozdrobnionego preparatu nad P_2O_5 — usuwano pozostałą wodę. Dekstran wytrącony bezpośrednio z brzeczki adsorbuje zawarte w niej cukry i sole mineralne. Ilość tych związków została oznaczona i odjęta od ciężaru dekstranu uzyskanego po wysuszeniu.

Metodą antronową określano stężenie dekstranu po uprzednim oczyszczeniu brzeczki z cukrów przez dializę. Metoda antronowa polega na barwnej reakcji z cukrowcami roztworu antronu w kwasie siarkowym. Ze względu na brak dostatecznej ilości odpowiednio cienkich błon nie mogliśmy się oprzeć wyłącznie na metodzie antronowej, mimo że jest ona dokładniejsza i szybsza. Metodę tę zastosowano w paru próbach jako kontrolną w stosunku do wagowej. Różnice wyników nie przekraczały błędu oznaczenia.

Kwasowość ogólną oznaczano przez bezpośrednie miareczkowanie 10 g brzeczki 0,1 N ługiem wobec fenoloftaleiny, a wynik wyrażano w procentach kwasu mlekowego.

WYNIKI BADAŃ I WNIOSKI

W tabeli I zebrano wyniki oznaczeń w brzeczce przed fermentacją i po zakończonej fermentacji. W rzeczywistości początkowa zawartość sacharozy odbiegała nieco od 10%; odchylenia wahały się w dziesiątych częściach procentu. Ze względu na łatwiejsze porównanie wyników wszystkie dane przeliczano w stosunku do 10% roztworu sacharozy.

Tabela I

Analiza chemiczna brzeczki przed i po fermentacji
(oznaczenia w procentach)
Chemical characteristics of the wort before and after the fermentation

Numer fermentacji Experiment No	Przed fermentacją Before fermentation %				Po fermentacji After fermentation %			
	sacharoza saccharose	fruktoza fructose	dekstran dextran	kwasowość obliczona jako kwas mlekowy acidity calculated in p. c. of lactic acid	sacharoza saccharose	fruktoza fructose	dekstran dextran	kwasowość obliczona jako kwas mlekowy acidity calculated in p. c. of lactic acid
1 *	10,00	0,26	0,20	0,14	0,13	5,31	4,55	0,21
2 *	10,00	0,41	0,20	0,15	0,11	4,02	4,26	0,21
3 *	10,00	0,31	0,12	0,12	0,68	4,80	4,57	0,25
4 *	10,00	0,43	0,19	0,15	0,10	4,26	4,54	0,23
5 *	10,00	0,02	0,05	0,11	0,02	4,79	4,61	0,29
6 *	10,00	0,29	0,15	0,10	0,18	5,25	3,66	0,30
15 **	10,00	0,26	0,16	0,10	0,34	5,12	4,16	0,30
18 **	10,00	0,30	0,24	0,15	0,24	5,25	4,55	0,38
24 **	10,00	0,32	0,25	0,13	0,08	5,04	4,52	0,38

* fermentacja w skali laboratoryjnej — on laboratory scale
** fermentacja w skali technicznej — in pilot factory.

Jak widać z tabeli, w większości fermentacji ilość nieodfermentowanej sacharozy nie przekraczała 0,2%, co uważa się praktycznie za odfermentowanie zupełne. Największa ilość nieodfermentowanej sacharozy wynosiła 0,68%, co praktycznie jest odfermentowaniem dobrym. Ilość kwasu mlekowego wahała się w granicach 0,06—0,25%.

Tabela II

Bilans sacharozy w poszczególnych fermentacjach
Saccharose balance during fermentation
(w procentach)

Nr fermentacji Experiment No	Sacharoza w brzeczce przed fermentacją Saccharose before fermentation	Sacharoza w brzeczce po fermentacji Saccharose after fermentation	Fruktoza powstała w czasie fermentacji Fructose formed during fermentation		Dekstran powstały w czasie fermentacji Dextran formed during fermentation		Kwas mlekowy powstały w czasie fermentacji Lactic acid formed during fermentation		Nie bilansujące się ilości sacharozy Amount of saccharose not accounted for
			bezpośrednio direct	w przeliczeniu na sacharozę[1] expressed as saccharose	bezpośrednio direct	w przeliczeniu na sacharozę[2] expressed as saccharose	bezpośrednio direct	w przeliczeniu na sacharozę expressed as saccharose[3]	
1	10,00	0,13	5,05	4,80	4,35	4,61	0.07	0,067	0,52
2	10,00	0,11	3,61	3,43	4,06	4,30	0,06	0,057	2,21
3	10,00	0,68	4,49	4,27	4,45	4,71	0,13	0,12	0,90
4	10,00	0,10	3,83	3,64	4,35	4,61	0,08	0,076	1,67
5	10,00	0,02	4,77	4,53	4,56	4,83	0,18	0,170	0,47
6	10,00	0,18	4,96	4,71	3,51	3,72	0,20	0,190	1,38
15	10,00	0,34	4,86	4,62	4,00	4,24	0,20	0,190	0,95
18	10,00	0,24	4,95	4,70	4,31	4,57	0,23	0,220	0,51
24	10,00	0,08	4,72	4,48	4,67	4,95	0,25	0,240	0,33

[1] Ilość fruktozy × 0,95 — amount of fructose × 0,95.
[2] Ilość dekstranu × 1,06 — amount of dextran × 1,06.
[3] Ilość kwasu mlekowego × 0,95 — amount of lactic acid × 0,95.

Bilans wprowadzonej sacharozy przeprowadzano następująco: Różnica między ilością produktów oznaczanych po fermentacji i przed fermentacją daje ilość powstałą z wprowadzonej sacharozy. Do ilości pozostałej po fermentacji sacharozy dodawano powstałą w czasie fermentacji fruktozę (w przeliczeniu na sacharozę), dekstran oraz kwasy organiczne, głównie kwas mlekowy. Nie bilansująca się ilość sacharozy stanowi różnicę między ilością wprowadzonej sacharozy a ilością otrzymanych produktów fermentacji.

Zestawienie tych wyników podano w tabeli II.

Jak widać z tabeli, w większości fermentacji nie bilansująca się ilość sacharozy nie przekracza 1%, a w pozostałych fermentacjach jest wyższa. Na podstawie tych danych można wnioskować, że obok kwasu mlekowego mogą powstawać inne produkty uboczne, albo też nie następuje całkowita polimeryzacja glikozy na dekstran, w wyniku czego powstają niższe polisacharydy.

Badania dotyczące tych przemian są przedmiotem następnej pracy.

Tabela III

Porównanie wyników oznaczania wydajności fermentacji dekstranowej przy pomocy obu stosowanych metod

The comparison of the results of determination of the yield of dextran-fermentation by two methods

Nr fermentacji Experiment No	Wydajność wyrażona w procentach w stosunku do ilości zużytej sacharozy Yield expressed in p. c. of the amount of saccharose used		
	A metoda wagowa gravidimetric method	B obliczona na podstawie oznaczania ilości utworzonej fruktozy calculated on the basis of the amount of fructose formed	B — A różnica difference
1	43,50	45,45	+ 1,95
2	40,60	32,49	— 8,11
3	44,50	40,41	— 4,09
4	43,50	34,47	— 9,03
5	45,60	42,93	— 2,67
6	35,10	44,64	+ 9,54
15	40,00	43,74	+ 3,74
18	43,10	44,55	+ 1,45
24	46,70	42,48	— 4,22

Fakt, że ilości fruktozy i dekstranu w przeliczeniu na sacharozę (rubryka 5 i 7) nie są identyczne, można tłumaczyć tym, że nie są to końcowe produkty fermentacji. Jeśli fruktozy jest mniej niż dekstranu, to znaczy, że na procesy uboczne nie objęte oznaczeniami została zużyta głównie glikoza, co specjalnie wyraźnie widać w fermentacjach oznaczonych numerami 15 i 6. Odwrotną sytuację mamy w fermentacjach 2 i 4, gdzie na inne przemiany została zużyta głównie fruktoza.

Celem zorientowania się, jaki błąd popełniamy przy obliczeniu wydajności dekstranu na podstawie oznaczania fruktozy, wykonano następujące obliczenia: procentową zawartość dekstranu w 10-procentowej brzeczce (podaną w rubryce 6 tabeli II) przeliczano w procentach na sacharozę (mnożnik 10). Z procentowej zawartości fruktozy (rubryka 4 tabeli II) obliczono dekstran (mnożnik 0,9) i wynik również wyrażono w procentach jako sacharozę (mnożnik 10). Wyniki zestawiono w tabeli III.

W fermentacjach oznaczonych numerami 1, 3, 5, 15, 18 i 24 obliczenie ilości dekstranu na podstawie fruktozy jest dostatecznie dokładne dla celów przemysłowych, gdyż błąd nie przekracza 5% w przeliczeniu na ilość wprowadzonej sacharozy. W pozostałych fermentacjach błąd wynosi od −0,93 do 9,54%.

W tych przypadkach nie można oprzeć się na obliczeniu wydajności dekstranu z oznaczenia fruktozy.

LITERATURA

Bailer R. W., Barker S. A., Bourne E. J., Stacey M., Theander O., 1957: Significance of oligosaccharide intermediates in dextran synthesis. *Nature*, **179** : 310.

Giglio D. M., Mc Cleskey C. S., 1953: Fermentation of sucrose by *Leuconostoc mesenteroides*. *J. Bact.*, **65** : 75.

Goddman A., Weil R. M., Stern K. G., 1955: On the mechanism of dextran formation. *J. biol. Chem.*, **217** : 977.

Kaniuga B., 1957: Opracowanie mikrobiologicznej i chemicznej metody kontroli przebiegu fermentacji dekstranowej oraz produktu końcowego. Dokumentacja prac. Inst. Przem. Ferment.

Koepsell H. J., Tsuchiya H. M., Hellman N. N., Karenko A., Koffman C. A., Sharpe E. S., Jackson R. W., 1955: Enzymatic synthesis of dextran. *J. biol. Chem.*, **200** : 793.

Kosiński K., 1955: Wykorzystanie produktów ubocznych, powstających przy fermentacji dekstranowej. Dokumentacja prac. Inst. Przem. Ferm.

Mański W., Skurska Z., Nawrocki J., 1953: Badania nad dekstranem. *Arch. Immunol. Terap. Dośw.*, **1** : 321.

Scott T. A., Melvin E. H., 1953: Determination of dextran with anthrone. *Anal. Chem.*, **25** : 1956.

Struszyński M., 1950: Analiza ilościowa i techniczna, tom III, str. 656.

Tsuchiya H. M., Koepsell H. J., Corman J. M., Bryant G., Bogard. M. O., Feger V. H., Jackson R. W., 1952: The effect of certain cultural factors on production of dextransucrase by *Leuconostoc mesenteroides*. *J. Bact.*, **64** : 521.

Willenberg W., 1953: Dextran, ein Veredelungoprodukt des Zuckers. *Zucker*, **6** : 33.

Wise C. S., Dimler R. J., Davis H. A., Rist C. E., 1955: Determination of easily hydrolyzable fructose units in dextran preparations. *Anal. Chem.*, **27** : 33.

B. Kaniuga and *A. Blechert*

SACCHAROSE BALANCE IN DEXTRAN FERMENTATION BY STRAIN *L. LEUCONOSTOC MESENTEROIDES*

Summary

Several experiments have been carried out on the saccharose balance during dextran fermentation with *L. mesenteroides* strain "L".

Quantitative determinations of saccharose, fructose, dextran and lactic acid in culture media have been made before as well as after the fermentation.

Initial saccharose concentration in the wort was 10%. The quantity of unfermented saccharose in wort in most experiments did not exceed 0,2%, the quantity of the lactic acid formed in the wort ranged from 0,06 to 0,25%.

The saccharose unaccounted for in determined end products amounted to 0,33–2,21%.

The fermentation output was measured by the dextran yield expressed in percent of the amount of saccharose used. The amount of produced dextran was determined by two methods. direct, gravidimetric method and indirect method by calculation from the amount of fructose formed. The discrepancies between the both of these methods were in the majority of cases small (less then 5%). Nevertheless in some experiments they reached rather high level (9,5%).

Due to this fact the method of determination of dextran from the amount of fructose formed should not be reccommended in many cases.

These data allow to suggest that either others end products except lactic acid may be formed or that not all glucose is polymerized intro dextran, and some low molecular oligosaccharides are formed.

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA
1958, 7, 139—148

J. Janicki i *J. Skupin*

CHARAKTERYSTYKA SKŁADU CHEMICZNEGO GRZYBNI ODPADKOWEJ *PENICILLIUM CHRYSOGENUM*

Z Katedry Technologii Rolnej Wyższej Szkoły Rolniczej w Poznaniu

Wpłynęło dnia 3 marca 1958 r.

Grzybnie otrzymane jako materiał odpadkowy przy produkcji najbardziej znanych antybiotyków (penicylina, streptomycyna, aureomycyna) są źródłem wysokowartościowych składników pokarmowych, głównie białka, tłuszczu i witaminów. Zawierają poza tym jeszcze pewne ilości antybiotyków. Dużą rolę biologiczna odgrywają w żywieniu aminokwasy, zwłaszcza zaś egzogenne.

Wpływem antybiotyków zawartych w materiale pokarmowym zwierząt na ich wzrost zajmowało się już wiele ośrodków badawczych (Braude, Kon, Porter, 1953). Mechanizm działania dodawanego antybiotyku na organizm nie został wprawdzie jeszcze dokładnie wyjaśniony, tym niemniej liczne doświadczenia wykazały celowość zastosowania antybiotyków jako dodatków do pasz (Jukes i współpracownicy, 1950, Braude, Wallace i Cunha, 1953). W Polsce jako produkt uboczny z produkcji antybiotyków posiadamy na razie tylko grzybnię popenicylinową z Tarchomińskich Zakładów Farmaceutycznych. Wydaje się, że produkt ten nie jest dotychczas należycie wykorzystywany w celach żywieniowych. Biniecki i Makowska (1953) badali grzybnię *Penicillium chrysogenum*, wykonując oznaczenia chemiczne: popiołu, fosforu, potasu, azotu ogólnego, pentozanów, błonnika i ergosterolu. Również Bormann (1955) cytuje wyniki analiz grzybni przeprowadzonych w Zakładzie Żywienia Zwierząt SGGW, w Zakładzie Antybiotyków w Warszawie oraz przez badaczy zagranicznych. W pracach tych brak jest jednak charakterystyki składu aminokwasowego.

W pracy niniejszej chodziło o oznaczenie wolnych aminokwasów oraz składu aminokwasowego białek zawartych w grzybni popenicylinowej, co poważnie decyduje o biologicznej wartości pokarmu. Wykonano poza tym jeszcze inne oznaczenia chemiczne: suchej masy, popiołu, azotu

ogólnego (białka), cukrów redukujących, tłuszczu, fosforu lecytynowego oraz penicyliny. Analizę chemiczną wykonano równolegle na materiale świeżym oraz na produkcie wysuszonym w suszarce próżniowej w temperaturze poniżej 40°. Susz został dostarczony przez Tarchomińskie Zakłady Farmaceutyczne. Świeżą grzybnię przechowywano w lodówce w temperaturze −3°. Poszczególne oznaczenia wykonano po miesiącu od chwili otrzymania surowca.

METODYKA ANALITYCZNA

1. Suchą masę grzybni „wysuszonej" oznaczano przez suszenie w temperaturze 105° do stałej wagi. Analogiczne oznaczenie w świeżej grzybni popenicylinowej wykonano suszą c próbę przez 8 godzin w temperaturze 60°, a następnie do stałej wagi w temperaturze 105°.

2. Substancje mineralne oznaczano przez spopielenie w temperaturze 580° grzybni uprzednio wysuszonej przez 6 godzin w temperaturze 105°.

3. Azot ogólny oznaczano metodą Kjeldahla. Przy przeliczeniu azotu na białko stosowano mnożnik 6,25.

4. Identyfikacja składu aminokwasowego hydrolizatu kwasowego grzybni.

Przy preparatyce kwasowych hydrolizatów grzybni *Penicillium* oraz przy charakterystyce aminokwasowej postępowano według znanych metod podanych przez Blocka (1950), Partridgea (1948), Mc Farrena (1951), Miettinena i Virtanena (1949), Worka (1949) opisanych również przez Niewiarowicza (1955). Stosowano metodę jednokierunkowej chromatografii bibułowej, technikę spływową i trzy równoległe chromatografowania z różnymi mieszaninami rozpuszczalników, które selektywnie rozdzielały dane grupy aminokwasów. Do hydrolizy użyto naważkę grzybni zawierającą dokładnie 1 g białka (N × 6,25). Grzybnię hydrolizowano mieszaniną 60 ml stężonego kwasu solnego (d = 1,19), 20 ml wody destylowanej i 20 ml 80-procentowego kwasu mrówkowego przez 20 godzin pod chłodnicą zwrotną przy lekkim wrzeniu. Hydrolizat zagęszczano do sucha na łaźni wodnej w temperaturze około 50° pod zmniejszonym ciśnieniem. Suchą pozostałość rozpuszczano w około 50 ml wody i znów zagęszczano jak wyżej. Zabieg ten następnie powtórzono jeszcze raz. Ponieważ w grzybni stwierdzono znaczne ilości substancji mineralnych, hydrolizat poddano odsoleniu przez przeprowadzenie aminokwasów do roztworu alkoholu absolutnego zakwaszonego kwasem solnym. W tym celu do suchej pozostałości po drugim zagęszczeniu dodawano około 50 ml bezwodnego alkoholu etylowego z dodatkiem kwasu solnego (1 ml stężonego HCl (1,19) na 100 ml alkoholu) i sączono. Nierozpuszczalne substancje huminowe oraz sole mineralne pozostają na sączku, aminokwasy zaś przechodzą do roztworu. Alkohol oddestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a pozostałość rozpuszczano w 10-procentowym alkoholu izopropylowym, ilościowo przenoszono do kolbki miarowej na 50 ml i uzupełniano do kreski. Hydrolizaty i wzorce aminokwasów przechowywano w temperaturze 0°. Na chromatogramy nanoszono równolegle porcje hydrolizatów oraz wzorcowe mieszaniny 17 aminokwasów o różnych stężeniach 0,25—3,00 μg w 2 μl. Poszczególne aminokwasy identyfikowano na trzech równoległych chromatogramach, stosując technikę spływową i trzy następujące mieszaniny rozpuszczalników:

a) n-butanol: kwas octowy lodowaty : woda, w stosunku objętościowym 4:1:5 — wg Partridge'a (1948). Fazą wodną wysycano komorę chromatograficzną. Chromatogram rozwijano na bibule Whatman Nr I przez 48 godzin w tem-

peraturze pokojowej (18—20°), po czym suszono przez 60 minut w suszarce elektrycznej z przepływem powietrza w temperaturze 40—60°.

b) fenol nasycony buforem o *pH* 12 wg Mc Farrena (1954). Fazę fenolową używano do chromatografowania, a warstwą wodną wysycano komorę. Chromatogram rozwijano przez 24 godziny na bibule Whatman Nr I, po czym suszono jak wyżej przez 2 godziny.

c) alkohol izoamylowy III-rzędowy nasycony wodą wg Miettinena, Virtannena (1949) i Worka (1949). Do fazy wodnej używanej do wysycania komory dodawano 8 ml lodowatego kwasu octowego. Chromatogram rozwijano przez 70—72 godzin na bibule Whatman Nr 4 w temperaturze pokojowej (18—20°) i suszono przez 45 minut.

Podobne wyniki ilościowe otrzymano, stosując do rozdziału pozostałych aminokwasów, tj. waliny, metioniny, fenyloalaniny, leucyny i izoleucyny, rozpuszczalnik o składzie: pirydyna : alkohol amylowy I-rz. : woda, w stosunku objętościowym 35 : 35 : 30, przy wolnych aminokwasach natomiast w stosunku 40 : 40 : 15. Komorę wysycano warstwą wodną (Edman 1943).

W celu uzyskania trwałego zabarwienia plam, chromatogramy wywoływano przez jednorazowe przeciągnięcie przez odczynnik ninhydrynowy, opisany przez Barrollera (1955) i sporządzony przez rozpuszczenie 75 mg chlorku kadmu w 6 ml wody z dodatkiem 0,3 ml kwasu octowego lodowatego, zmieszanie otrzymanego roztworu z 100 ml bezwodnego acetonu i rozpuszczenie 2 g ninhydryny (wodzian trójketohydroindenu). W celu wywołania chromatogram ogrzewano przez 2 godziny w temperaturze 35°. W przypadku suszenia chromatogramów w temperaturze pokojowej, kompleks barwny tworzył się po kilku minutach, osiągając maksimum barwy dopiero po 24 godzinach. Intensywność fioletowopurpurowych plam poszczególnych aminokwasów w różnych odcieniach nie zmieniała się wyraźnie nawet po kilku tygodniach.

W celu ilościowego oznaczenia proliny, dającej z ninhydryną mało intensywne żółtawobrązowe zabarwienie, równoległy, identyczny chromatogram butanolowy wywoływano 0,25-procentowym roztworem izatyny (dwuketo-dwuhydro-benzopyrol) w bezwodnym acetonie (Smith 1953). Chromatogram suszono przez 10 minut w temperaturze 105°, otrzymując intensywnie niebieskie plamy proliny na żółtym tle bibuły.

Oznaczenia ilościowe aminokwasów przeprowadzano na drodze planimetrowania, wizualnego porównywania powierzchni plam i ich intensywności zabarwienia z różnymi rozcieńczeniami podstawowej mieszaniny wzorcowej aminokwasów o stężeniu 3,0 µg w 2 µl każdego z jej komponentów. Wyniki chromatograficznej analizy aminokwasowej podano w tabeli I.

5. Oznaczenie tryptofanu w hydrolizacie alkalicznym grzybni (Block 1952).

Ponieważ w warunkach hydrolizy kwasowej tryptofan ulega rozkładowi, aminokwas ten oznaczano w hydrolizacie alkalicznym. Odważkę grzybni zawierającą 1,60 mg azotu ogrzewano z 10 ml 14-procentowego wodorotlenku baru na łaźni parafinowej w temperaturze 125°, pod chłodnicą zwrotną przez 18—20 godzin. Kation barowy usuwano ze środowiska reakcyjnego w postaci siarczanu baru małym nadmiarem 1 N kwasu siarkowego. Osad odsączano, przemyto kilkakrotnie małymi porcjami wody destylowanej, zawierającej kroplę lodowatego kwasu octowego. Otrzymany przesącz zagęszczano w próżni w temperaturze 50° do małej objętości.

Tabela I

Skład aminokwasowy hydrolizatu grzybni *Penicillium chrysogenum*
Amino-acids in hydrolysates of mycelial protein of *Penicillium chrysogenum*

Aminokwasy Amino-acids	Ilość aminokwasu w przeliczeniu na % białka grzybni, przyjmując 16% N — w białku Amount of aminoacid in % of protein content of mycelium	
	Rozpuszczalnik: n-butanol (kwas octowy) woda w stos. obj. 4 : 1 : 5, Whatman Nr 1, czas 48 godz. wg Partridge'a (1948) Solvent mixture: n-butanol (acetic acid) water 4 : 1 : 5v(v)v, Whatman No I, time 48 h, Partridge (1948)	
	Grzybnia wysuszona Dried mycelium	Grzybnia niewysuszona Undried mycelium
Cystyna, cysteina	0,067	0,064
Lizyna	6,45	6,20
Histydyna	2,50	2,40
Arginina	2,50	2,40
Alanina	5,00	4,80
Prolina	7,66	7,35
Tyrozyna	8,75	8,40
	Rozpuszczalnik: fenol nasycony buforem o *pH* 12, Whatman Nr 1, czas 24 godz. wg Mc Farren (1951) Solvent mixture: Phenol saturated with buffer *pH* 12, Whatman No 1, time 24 h, Mc Farren (1951)	
Kwas asparaginowy	3,83	3,67
Kwas glutaminowy	7,66	7,35
Glicyna	3,83	3,67
Seryna	2,50	2,40
Treonina	6,45	6,20
	Rozpuszczalnik: alkohol izoamylowy III rz. nasycony wodą, Whatman Nr 4, czas 72 godz. wg Miettinena i Worka (1949) Solvent: Tert-isoamyl-alcohol saturated with water, Whatman No 4, time 72 h, Miettinen (1949) Work (1949)	
Walina	6,46	6,20
Metionina	1,25	1,20
Fenyloalanina	2,50	2,40
Leucyna	6,45	6,20
Izoleucyna	5,00	4,80
	Rozpuszczalnik: n-butanol nasycony wodą, Whatman Nr 1, czas 6—7 dni, wg Miettinena Solvent: n-butanol saturated with water, Whatman No 1, time 6—7 days, Miettinen	
Tryptofan	0,067	0,19

a następnie wysuszano w eksykatorze próżniowym nad chlorkiem wapnia. Pozostałość rozpuszczano w 1 ml 10-procentowego alkoholu izopropylowego. Badaną próbę chromatografowano metodą spływową równolegle z naniesionymi obok rozcieńczeniami roztworu wzorcowego tryptofanu. Stosowano rozpuszczalnik n-butanol nasycony wodą, bibułę Whatman Nr I, i czas rozwijania 6—7 dni (Miettinen i Virtannen 1949, Hais i Macek 1954). Uzyskane wyniki podano w tabeli I.

6. Oznaczenie wolnych aminokwasów.

Próbę do analizy przygotowano wg metody Awapary (1948) używanej do podobnych celów przez szereg innych badaczy (Block, 1952). Do analizy brano odważkę grzybni zawierającą 10 g suchej masy, zadawano ją 50 ml 80-procentowego alkoholu etylowego, przez pewien czas wytrząsano, następnie sączono przez sączek G3, przepłukiwano 80-procentowym alkoholem etylowym (3 × 10 ml). Przesącz w rozdzielaczu zadawano 100 ml chloroformu i po wytrząśnięciu pozostawiano do sklarowania do następnego dnia. Następnie oddzielano warstwę alkoholową, odparowywano ją pod zmniejszonym ciśnieniem, a pozostałość ilościowo rozpuszczano w 10% izopropanolu i przenoszono do kolbki miarowej na 50 ml, dopełniając do kreski. W przypadku grzybni niewysuszonej, shomogenizowaną próbkę suszono w eksykatorze próżniowym przez 48 godzin, następnie postępowano jak wyżej. Dane uzyskane przez analizę chromatograficzną alkoholowych wyciągów grzybni *Penicillium* podaje tabela II.

Tabela II

Wolne aminokwasy w wyciągu z grzybni *Penicillium chrysogenum*
Free amino-acids in extract of mycelium of *Penicillium chrysogenum*

Wolne aminokwasy Free amino-acids	% w przeliczeniu na suchą masę % of dry weight	
	grzybnia wysuszona dried mycelium	grzybnia niewysuszona undried mycelium
Cystyna, cysteina	nie stwierdzono — not present	ślady-traces
Lizyna	„ „ „ „	0,38
Histydyna	„ „ „ „	0,25
Arginina	„ „ „ „	0,50
Alanina	„ „ „ „	0,75
Prolina	ślady — traces	0,85
Kwas asparaginowy	nie stwierdzono — not present	0,25
Tyrozyna	ślady — traces	0,065
Kwas glutaminowy	nie stwierdzono — not present	0,85
Glicyna	„ „ „ „	0,38
Seryna	1,88	1,50
Treonina	nie stwierdzono — not present	0,38
Walina	ślady — traces	1,50
Metionina	nie stwierdzono — not present	0,38
Fenyloalanina	1,25	0,25
Leucyna	nie stwierdzono — not present	0,85
Izoleucyna	„ „ „ „	1,25
Tryptofan	„ „ „ „	1,50

7. Oznaczenie cukrów redukujących metodą Hagedorna-Jensena zmodyfikowaną przez Proskuriakowa (wg Pronin, 1953).

Dobrze sproszkowaną próbę wysuszonej grzybni zawierającą 10 g suchej masy umieszczano w kolbce miarowej na 100 ml, dodano 80 ml wody destylowanej i co pewien czas wytrząsano przez 1 godzinę. Następnie dodano 2 ml 12-procentowego wolframianu sodu, uzupełniano wodą destylowaną do kreski i po 10 minutach sączono. Z klarownego przesączu odpipetowywano po 10 ml roztworu, zadawano 10 ml 0,5 N zasadowego żelazicyjanku potasu (16,5 g $K_3Fe(CN)_6$ i 70 g Na_2CO_3 rozpuszczano w 1 litrze wody destylowanej i przechowywano w ciemnej butelce) i umieszczano na 20 minut we wrzącej łaźni wodnej. Po ostudzeniu badanego przesączu do temperatury pokojowej zadawano go 10 ml mieszaniny dwóch roztworów, które miesza się bezpośrednio przed użyciem w stosunku objętościowym 4 : 1.

a) 10 g $ZnSO_4$ nie zawierającego żelaza i 50 g NaCl rozpuszczono w 160 ml H_2O;

b) 50 g KJ rozpuszczono w 400 ml H_2O oraz dodano 10 ml 9% kwasu octowego.

Następnie miareczkowano 0,05 N roztworem tiosiarczanu sodu wobec 1 ml 1% roztworu skrobi. Jednocześnie z właściwym oznaczeniem w tych samych warunkach przeprowadzono próbę zerową, używając wody destylowanej zamiast badanego roztworu. Wyniki przeliczono na mg maltozy i wyrażono w stosunku do suchej masy grzybni.

8. Oznaczenia tłuszczu dokonano w grzybni wysuszonej na drodze ekstrakcji eterem etylowym w aparacie Soxhleta przez 6 godzin.

9. Oznaczenie fosforu lecytynowego (Jones i Kent-Amos 1947).

Naważkę grzybni zawierającą około 10 g suchej masy suszono w eksykatorze próżniowym nad stężonym kwasem siarkowym, zawierającym 5—20% P_2O_5 przez 24 godziny. Wysuszoną grzybnię przenoszono do gilzy ekstrakcyjnej aparatu Soxhleta, wylot chłodnicy którego zaopatrzono w rurkę z chlorkiem wapnia i ekstrahowano bezwodnym alkoholem przez 12 godzin. Po odpędzeniu alkoholu pozostały ekstrakt przeniesiono ilościowo do tygla porcelanowego, kolbkę przepłukano gorącym bezwodnym alkoholem, po czym dodano do ekstraktu ca 1,0—2,0 g tlenku magnezu i odparowano alkohol na łaźni wodnej. Pozostałość w tyglu zwęglono nad palnikiem, w końcu spopielono w piecu muflowym w temperaturze 700°. Po ostudzeniu osad rozpuszczono trzema 5 ml porcjami kwasu azotowego (5 cz. stęż. NHO_3 (1,49) + + 15 cz. H_2O v(v)). Przeniesiono do zlewki na 200 ml, dodano 40 ml wody destylowanej, 30 ml 30-procentowego roztworu azotanu amonu i 5 ml stężonego kwasu azotowego (1,49). Następnie ogrzewano roztwór do temperatury około 95° i wytrącano fosforany 30 ml 3-procentowego roztworu molibdenianu amonu, również uprzednio ogrzewanego do 90°. Roztwór molibdenianu amonu przygotowano rozpuszczając 3 g molibdenianu amonu w 100 ml wody, zawierającej 8 ml stężonego kwasu azotowego i roztwór pozostawiono do następnego dnia. Następnie roztwór ogrzewano do temperatury 60° w ciągu 10—20 minut, po czym odstawiono do ostudzenia. Po 2 godzinach osad przeniesiono ilościowo na tygiel G3, przemyto 80—100 ml roztworu azotanu amonu (5 g azotanu amonu plus 4 ml stężonego HNO_3 (1,49) w 100 ml wody). Osad przemywano 2—3 razy wodą destylowaną i suszono w temperaturze 170—180° do stałej wagi. Mnożąc ilość osadu przez 0,03753, otrzymano ilość P_2O_5 lecytynowego w badanej próbie.

10. Oznaczenie penicyliny (Milos Herold 1953, Alicino 1946).

Przy oznaczeniu penicyliny w odpadkach grzybni *Penicillium* posługiwano się miareczkową metodą jodometryczną. Do oznaczania wzięto około 10 g wysuszonej grzybni. Penicylinę ekstrahowano 80 ml wody destylowanej, a następnie do otrzy-

Tabela II

Wyniki diagnozy szczepów wyodrębnionych z zacierów fermentacji acetonowo-butanolowej

Characteristics of strains isolated from the mashes

Szczep Strain	Barwienie Grama Gram	Przetrwalnikowanie Spores stain	Wzrost na wodzie drożdżowej Growth on yeast-autolysate	Wzrost na ziemniaku Growth on potato	Zmiany mleka Growth on milk	Wzrost na podłożu syntetycznym Growth on synthetic medium	Arabinoza	Ksyloza	Glikoza	Laktoza	Maltoza	Sacharoza	Rozpuszczanie żelatyny Gelatine liquefacion	Wytwarzanie H_2S H_2S production	Wytwarzanie indolu Indol production	Wytwarzanie amoniaku NH_3 production	Redukcja azotanów Nitrate reduction	Reakcja na kwas mlekowy Lactic acid reaction	Określenie jako zbliżony do typu
d	+	—	Z	kolonie drobne — small colonies	N	—	K	K	K	K	K	O	—	—	—	—	—	+	*L. mannitopoeus*
k	+	—	Z	skąpy — slight	C	—	K	K	K	K	K	O	—	—	—	—	—	+	*L. buchneri*
n	+	—	Z	— „ —	N	—	O	O	K	O	K	K	—	—	—	—	—	+	*L. leichmannii*
10	+	—	Z	żółte — yellow	C	—	O	O	K	K	K	K	—	+	—	—	—	+	*L. fermentatae*
11	+	—	Z	— „ —	C	—	O	O	K	K	K	K	—	+	—	—	—	+	*L. fermentatae*
13	+	—	Z	— „ —	C	—	O	O	K	K	K	K	—	+	—	—	—	+	*L. fermentatae*
A	+	—	O	O	C	—	O	K	K	K	K	K	—	—	—	—	—	+	*Str. lactis*
a	+	+	B	pofałdowany	N	+	O	O	K	O	K	K	+	—	—	—	—	—	*B. mesentericus*
1	+	+	Z	biały nalot — whitish	N	—			W	O	W	W	+	—	—	—	—	—	*B. virgulus*
t	+	+	Z		N	—	O	O	W	O	O	O	+	+	+	—	—	—	*Bacillus sp.*
F	+	+	Z	pofałdowany	N	+	O	O	W	W	O	W	+	+	—	—	+	—	*B. subtilis*
X	+	+	O	obfity — abundant	C	+	K	O	O	K	O	K	+	—	—	—	+	—	*Bacillus sp.*
u	+	—	O	skąpy — slight	N	—	O	O	O	O	O	O	—	—	—	—	—	—	*Sarcina lutea*
E	+	—	Z	O	C	+	O	O	O	O	O	O	—	—	—	—	—	—	*Sarcina subflava*
Y	+	—	O	O	N	—	O	O	K	O	O	O	—	—	—	—	—	—	*Sarcina lutea*
s	—	—	O	pofałdowany	N	—	O	O	K	K	O	O	—	—	—	+	+	—	*Bacterium delmarvae*
1	—	+	Z	wzrost średni — medium	N	+	K	K	O	O	K	O	+	—	—	—	+	—	*Bacillus polymyxa*
4a	+	—	Z	O	C	+	W	W	O	W	—	—	+	—	—	+	+	—	*Sarcina tetragena*
4	—	—	O	pofałdowany	C	—	O	O	K	K	O	O	—	—	—	+	+	—	*Bacterium delmarvae*
S	+	+	B	O	C	—	O	O	K	K	K	O	+	—	—	+	—	—	*Clostridium acetobutylicum*
K	+	—	Z	O	C	+	O	O	K	O	K	K	+	—	—	+	—	+	*Streptococcus liquefaciens*
C	+	—	O	O	C	—		K	K	K	—	K		+	—	—	—	—	*Micrococcus citreus*
f	+	—	Z	skąpy — slight	N	—	O	O	W	W	W	W	—	—	—	—	—	—	*Micrococcus hauserii*
z	+	+	B	O	C		O	O	K	K	K	O	+	—	—	+	—	—	*Clostridium acetobutylicum*
b	—	—	Z	skąpy — slight	C	+	O	O	K	O	K	K	+	—	+	—	—	—	Bakterie b. polimorficzne zbliżone do *Pseudobacterium variabilis*
o	—	—	O	— „ —	N	—	O	O	K	K	O	O	—	—	—	+	+	—	*Bacterium delmarvae*
h	+	—	Z	— „ —	C	—	O	O	K	O	K	K	—	—	—	—	—	—	*L. leichmannii*
y	+	+	B	O	C		O	O	K	K	K	O	+	—	—	+	—	—	*Clostridium acetobutylicum*
3	+	+	Z, B	obfity, śluzowy - abundant slimy	C	+	K	K	K	K	O	O	—	—	—	—	+	—	*B. zoogleicus*
D	+	—	O	O	C	—		K	K	K		K		—	—	—	—	—	*Micrococcus citreus*
7a	+	+	Z, B	O	C	+	K	K	K	K	O	O	—	—	—	—	+	—	*B. zoogleicus*
8	+	—	Z	obfity — abundant	N	+	O	O	W	K	K	O	+	+	—	+	—	—	Bardzo krótkie pałeczki Rodzaj: *Bacterium*

Objaśnienie: K — Zakwasza
Note: acidity
W — Wzrost bez zakwaszania
No acid
O — Brak wzrostu
No growth
B — Błonka
Pellicle
Z — Zmętnienie
Turbidity
C — Ścięcie
Coagulation
N — Bez zmian
Unchanged

Szczepy: W, C, 9 — zaliczono do drożdżaków
Strains: W. C, 9 — diagnosed as yeasts

manego wyciągu dodano około 10 g chlorku sodu i całość rozcieńczono w kolbce miarowej do 100 ml tak, że stężenie chlorku sodu w ekstrakcie wynosiło ca 10%. Otrzymany roztwór chłodzono do temperatury 3°. 25 ml wyciągu po zakwaszeniu kwasem solnym do *pH* 2,0 ekstrahowano podwójną objętością spreparowanego przez nas octanu amylu o temperaturze wrzenia 145° (Vogel 1946). Warstwę octanową suszono bezwodnym siarczanem sodu, a następnie po przesączeniu odpipetowano 10 ml, które z kolei wytrząsano z 20 ml 0,2 N buforu fosforanowego o *pH* 7,8. Otrzymany ekstrakt fosforanowy używano do właściwego oznaczenia jodometrycznego. 10 ml wyciągu doprowadzano do *pH* 11,0 przy pomocy 1 N NaOH. Po 15 minutach dodano 1 N HCl do *pH* 2,0 oraz 10 ml 0,01 N roztworu jodu i pozostawiono na 30 minut w ciemnym miejscu. Nieprzereagowany wolny jod miareczkowano 0,01 N tiosiarczanem sodu wobec skrobi. Równocześnie z oznaczeniem właściwym przeprowadzono próbę ślepą, w której stosowano jako wzorzec sól prokainową penicyliny G z Tarchomińskich Zakładów Farmaceutycznych o mocy 950 j.m./mg (data ważności 30.11.57). 37,6 mg tejże soli rozpuszczono w ca 80 ml wody destylowanej, dodano około 10 g chlorku sodu, zakwaszono 1 N HCl — do *pH* 2,0 umieszczono na 1 minutę we wrzącej łaźni wodnej, następnie chłodzono i uzupełniono wodą destylowaną do 100 ml. Dalej postępowano analogicznie jak przy próbie właściwej. Różnice między ilością mililitrów 0,01 N tiosiarczanu sodu zużytych w próbie właściwej dzielono przez 2,52 i następnie mnożono przez 1,600, w celu wyrazenia wyników w jednostkach międzynarodowych penicyliny. Autor metody podaje, że przy dobrym opanowaniu metodyki błąd oznaczenia waha się w granicach ± 10%.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Oznaczenia chemiczne w grzybni popenicylinowej wykonano równolegle w materiale świeżym oraz w produkcie wysuszonym w próżni w temperaturze poniżej 40°.

W pracy niniejszej chodziło głównie o zbadanie składu aminokwasowego grzybni popenicylinowej. Poza tym w materiale badanym oznaczono jeszcze: suchą masę, popiół, azot ogólny (białko), cukry redukujące, tłuszcz, fosfor lecytynowy oraz penicylinę (tabela III).

Identyfikacja składu aminokwasowego hydrolizatów grzybni oraz wolnych aminokwasów wykazała pewne zmiany w obrębie komponentów azotowych. Stwierdzono bowiem różny stosunek aminokwasów hydrolizatu białkowego do aminokwasów wolnych w produktach: świeżym i wysuszonym (tabela I i II). I tak w hydrolizatach grzybni wysuszonej wykryto stosunkowo duże ilości lizyny (6,45%), alaniny (5,0%), proliny (7,66%), tyrozyny (8,75%), kwasu glutaminowego (7,66%), treoniny (6,45%), waliny (6,45%), leucyny (6,45%) oraz izoleucyny (5,0%), a wśród wolnych aminokwasów jedynie w większych ilościach serynę (1,88%) i fenyloalaninę (1,25%) oraz ślady proliny, tyrozyny i waliny.

W hydrolizatach grzybni niewysuszonej oprócz występowania w dużych ilościach tych samych aminokwasów co w hydrolizatach grzybni wysuszonej stwierdzono znacznie więcej wolnych aminokwasów, między innymi alaninę (0,75%), prolinę (0,85%), kwas glutaminowy (0,85%),

serynę (1,50%), walinę (1,50%), leucynę (0,85%), izoleucynę (1.25%) oraz tryptofan (1,50%), którego w wyciągach alkoholowych grzybni wysuszonej nie znaleziono. Zmiany jakościowe i ilościowe w zawartości wolnych aminokwasów w dwóch rodzajach grzybni można tłumaczyć czynnością aparatu enzymatycznego grzybni świeżej oraz wpływem tempe-

Tabela III

Zawartość niektórych składników w grzybni *Penicillium chrysogenum*
Some chemical characteristics of mycelium of *Penicillium chrysogenum*

		Grzybnia — mycelium	
		wysuszona dried	niewysuszona undried
Sucha masa Dry mass	% całkowitej wagi % of total weight	89,65	14,20
Popiół Ash	% suchej masy % of dry mass	12,05	10,80
Azot ogólny Total N	— „ —	6,05	5,81
Białko Protein	— „ —	37,81	36,31
Cukry redukujące jako maltoza Reducing sugars as maltose	— „ —	0,46	0,95
Tłuszcze Fat	— „ —	4,18	nie oznaczono not determined
Lecytyny Lecithin	— „ —	0,0937	0,0867
Penicylina w j.m./g Penicillin u/g	— „ —	1565	nie oznaczono not determined

ratury. Duża ilość wolnych aminokwasów grzybni niewysuszonej jest odzwierciedleniem aktywności enzymatycznej świeżej grzybni.

Abstrahując od pewnych strat związków azotowych rozpuszczalnych w wodzie, badany produkt stanowi bogate źródło białka (37,81—36,31% suchej masy). Inne oznaczenia analityczne wykazały również dużą zawartość soli mineralnych (10,80—12,05% suchej masy). Szczegółowej analizy popiołu nie przeprowadzono.

Stwierdziliśmy również różną zawartość cukrów redukujących w grzybni wysuszonej i świeżej (0,46 i 0,95% suchej masy), co można tłumaczyć zmianami enzymatycznymi. Poza tym wykryto w grzybni wysuszonej jeszcze stosunkowo duże ilości penicyliny (1565 j.m./g) co wskazuje,

że grzybnia jest stosunkowo bogatym źródłem tego antybiotyku. Penicylinę oznaczono w wysuszonej grzybni dopiero po 3 miesiącach od chwili otrzymania próby (grzybnię przechowywano w temperaturze −3°).

Ponieważ na 1 tonę paszy dodaje się 5—15 g antybiotyku, zastosowanie 2,5—7,5 kg odpadków grzybni *Penicillium* pokryłoby zapotrzebowanie organizmu na penicylinę, abstrahując od równoczesnego wzbogacenia pokarmu w białko, wolne aminokwasy, tłuszcz, substancje mineralne i cukry.

Konfrontując uzyskane wyniki oznaczeń wody, białka, tłuszczu i popiołu grzybni *Penicillium* z danymi cytowanymi przez Bormanna (1955) można stwierdzić duże rozbieżności rezultatów analitycznych. I tak — jak cytuje Bormann — w wysuszonych w temperaturze 60° odpadkach penicylinowych uzyskiwano zawartość wody w granicach 6,2—13,02% (my otrzymaliśmy 10,35%), tłuszczu 16,83—35,14%, (my 4,18% suchej masy), popiołu 8,0—23,60 (my 12,05% suchej masy). Poza tym — jak cytuje Bormann — w Zakładzie Żywienia Zwierząt SGGW otrzymano następujący skład chemiczny świeżych odpadków penicylinowych (w %): wody 85,28, białka 37,57 suchej masy, tłuszczu 9,51, popiołu 15,62. My uzyskaliśmy: wody 85,80, białka 36,31 suchej masy, popiołu 10,80.

Różnice między wynikami tych samych oznaczeń w różnych laboratoriach tłumaczy Bormann głównie odmiennym przebiegiem procesu technologicznego otrzymywania antybiotyku oraz rodzajem szczepu i pożywki.

W Zakładzie Antybiotyków w Warszawie wykazano, że 1 g wysuszonej w temperaturze 60° grzybni *Penicyllium* zawiera 2 μg witaminu B_{12} oraz 56 μg witaminu B_2. Obecność czynnika białka zwierzęcego (Animal Protein Factor) wskazuje również na korzyści zastosowania grzybni popenicylinowej jako dodatku do materiału pokarmowego zwierząt.

LITERATURA

Alicino J. F., 1946: Iodometric method for the assay of penicillin preparations. *Ind. Eng. Chem. Anal.*, **18** : 619.

Awapara J., 1948: Application of paper chromatography to the estimation of free amino-acids in tissues. *Arch. Biochem.*, **19** : 172.

Barroller J., 1955: A ninhydrin reagent to the quantitative analysis of amino-acids on the filter paper chromatograms. *Naturwiss.*, **42** : 416.

Biniecki S. i Makowska Z., 1953: Analiza chemiczna grzybni *Penicillium chrysogenum*. *Acta Polon. Pharm.*, **10** : 147.

Block R. J., 1950: Estimation of amino-acids and amines on paper chromatograms. *Anal. Chem.*, **22** : 1327.

Block R. J., 1952: Hydrolysis of proteins. *Paper Chromatography.*

Bormann J., 1955: Odpadki uzyskiwane przy produkcji antybiotyków. *Pasze*, 337.

Braude R., Kon S. K. i Porter J. W. G., 1953: Antibiotics in nutrition. *Nutrition Abstr. Rev.*, **23** : 473.

Braude R., Wallace H. D. and Cunha T. J., 1953: The antibiotics in animal feeding. *Antibiotics and Chemotheraphy*, **3** : 271.

Edman P., 1945: On the purfication and chemical composition of hypertensin. *Arkiv. Kemi. Mineral. Geolog.* 22 A, **3** : 000.

Hais J. M. i Maček K., 1954: Aminokyseliny. Rozpouštědlove soustavy. *Papirova Chromatografie*, **192.**

Herold Milos, 1953: Stanoveni jednostek penicilinu. *Antibiotika.* Praha 38.

Jones D. W. and Kent-Amos A. J., 1947: The determination of organic phosphorus. *Modern Cereal Chemistry.*

Jukes T. H., Stockstad E-L, R., Taylor R. R., Cunha T. J., Edwards H. N. and Meadows G. B., 1950: Growth-promoting effect of aureomycin on pigs. *Arch. Biochem.*, **26** : 324.

Mc Farren E. F., 1951: Buffered filter paper chromatography of amino-acids. *Anal. Chem.*, **23** : 168.

Miettinen J. K. and Virtannen A. J., 1949: A new technique in paper chromatography. *Acta Chim. Scand.*, **3** : 459.

Niewiarowicz A., 1955: Oznaczenie aminokwasów w produktach spożywczych metodą jednokierunkowej chromatografii bibułowej. *Przemysł Spoż.*, **12** : 502.

Partridge S. M., 1948: Filter paper partition chromatography of sugars. I. *Biochem. J.*, **42** : 238.

Pronin S. J., 1953: Oprjedjelenie diastaticzeskoj aktiwnosti. Amyloliticzeskie fermenty i ich rola w piszczewoj promyszlennostii. Moskwa.

Smith J., 1953: A technique of revealing the spots on chromatograms. *Nature.* **171** : 43.

Vogel A. J., 1946: N-amyl acetate. *Practical Organic Chemistry.* 377.

Work E., 1949: Chromatographic investigation of amino-acids from microorganisms. I. *Biochim. Biophys. Acta*, **3** : 400.

J. Janicki and *J. Skupin*

THE CHEMICAL COMPOSITION OF THE MYCELIUM OF *PENICILLIUM CHRYSOGENUM*

Summary

The investigators have examined the amino acid composition of mycelium of *Penicillium chrysogenum* obtained from the Pharmaceutical Institute in Tarchomin. They have analysed the fresh material as also the dried one in vacuum in the temperature below 40°.

The amino acids were determined with the method of paper chromatography. The authors found several free amino acids in the fresh mould (alanine, proline, glutamic acid, aspartic acid, serine, valine, leucine, isoleucine, tryptophan, Table II). In the dried material only two free amino acids (serine, phenylalanine) were found in greater amounts whereas only traces of proline, tyrosine and valine were observed.

In the acid hydrolysate of the mycelium of *Penicillium chrysogenum* the content of amino acids was determined (Table I). The amino acid composition of the fresh mould - mycelium was quite similar to that of the dried one.

The authors have determined also the content of water, ash, total-nitrogen, reducing sugars, fat, lecithin and penicillin (Table III).

The investigations have shown a great food value of the mycelium on *Penicillium chrysogenum.*

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA
1958, 7, 149—158

Z. Ilczuk

ZAKAŻENIA ZACIERÓW FERMENTACJI ACETONOWO-BUTANOLOWEJ

Z Katedry Technologii Rolnej Wyższej Szkoły Rolniczej w Lublinie

Wpłynęło dnia 21 kwietnia 1958 r.

Obecność mikroflory postronnej w zacierach fermentujących jest częstokroć przyczyną różnego rodzaju odchyleń od normalnego przebiegu procesów technologicznych. Może się to odbijać na wydajności produktów końcowych danej fermentacji i tym samym może być powodem znacznych strat materialnych. Dotyczy to zwłaszcza takich trudnych i niezupełnie jeszcze opanowanych fermentacji, jak fermentacja acetonowo-butanolowa.

Zakażenia zacierów w tej fermentacji dzielone są zwykle na trzy kategorie (B e e s c h 1953). Beesch do pierwszej kategorii zalicza bakterie fermentacji mlekowej. Drugi typ stanowią wszelkie inne (poza mlekowymi) bakterie i drożdżaki. W końcu do ostatniej grupy należą bakteriofagi atakujące *Clostridium acetobutylicum.*

Źródła zakażeń fermentacji acetonowo-butanolowej stanowią, podobnie zresztą jak i w innych fermentacjach przemysłowych, obok wody i powietrza także surowce. Melasa i mąka zbożowa dodawana do zacierów w ilości 1% stanowią obecnie najczęściej stosowane surowce przy biologicznej produkcji acetonu i butanolu. Zwłaszcza mąka może być źródłem zakażeń bakteriami mlekowymi i to tym łatwiej, że mąka, jak wiadomo, nie może być poddawana całkowitej sterylizacji cieplnej. Sprzyja to przeżywaniu pewnej ilości zawartych w niej drobnoustrojów, szczególnie przy niedostatecznym wymieszaniu mąki z wodą, gdy tworzą się grudki, wewnątrz których znajdować się mogą bakterie. Już w r. 1925 F r e d, P e t e r s o n i M u l v a n i a, badając bakterie mlekowe jako szkodniki fermentacji acetonowo-butanolowej, wskazywali, że ich naturalnym siedliskiem są nasiona zbóż. Badaczom tym udało się wyizolować z ziaren najpospolitszych zbóż takie gatunki bakterii mlekowych, jak *Lactobacillus leichmanii, L. mannitopoeus, L. gracilis,* a więc te, które mogą stać się powodem znacznych strat w przemyśle butanolowym.

Należy dodać, że nie wszystkie bakterie mlekowe w jednakowym stopniu hamują proces fermentacji acetonowo-butanolowej; niektóre z nich nie wywierają większego wpływu na wydajność, podobnie jak drobnoustroje pozbawione zdolności kwaszenia. Do przedstawicieli tej grupy bakterii mlekowych należy przede wszystkim rodzaj *Streptococcus*, bakterie typu *Lactobacillus pentoaceticus* i inne.

W zacierach fermentacji acetonowo-butanolowej spotyka się również gatunki bakterii i drożdży, które nie powodują znacznego zakwaszania podłoża. Obecność tego typu zakażeń nie przynosi fermentacji acetonowo-butanolowej tak wyraźnych szkód, jak zakażenia bakteriami mlekowymi. Jest to prawdopodobnie podstawowa przyczyna mniejszego zainteresowania się tą grupą drobnoustrojów rozwijających się w zakażonych zacierach fermentacji acetonowo-butanolowej. W literaturze spotyka się jedynie drobne wzmianki na ten temat. Fred, Peterson oraz Caroll (1925) wymieniają jedynie *B. globigii* i *B. mesentericus* zastrzegając, że poza tworzeniem czerwonego pigmentu w zacierach z kukurydzy nie naruszają one normalnego przebiegu fermentacji. Również Beesch (1953), wymieniając różne typy morfologiczne *B. subtilis* oraz drożdżaki, podaje, że obecność ich w zacierach fermentacyjnych nie przynosi wielkiej szkody. Podobnie wypowiadają się w tej kwestii Prescott i Dunn (1952) oraz Bolcato (1952). Bakterie tej grupy przedostają się najczęściej do zacierów z innym surowcem niż mąka zbożowa — przeważnie z melasą. Melasa otrzymywana z cukrowni jest zwykle mniej lub bardziej zakażona bakteriami, przy czym, jak podaje Plewako i Giwartowski (1952), przeciętna ilość drobnoustrojów w 1 g melasy waha się od 10 do 500 tysięcy. Na zakażenia te składają się bakterie przetrwalnikujące i nieprzetrwalnikujące. Spośród przetrwalnikujących wymieniane są najczęściej: *Bacillus subtilis, B. mesentericus, B. megatherium*; z nieprzetrwalnikujących zaś *Leuconostoc mesenteroides* i *L. aglutinans* oraz przedstawiciele rodzajów *Micrococcus, Tetracoccus* i *Sarcina.*

Najniebezpieczniejszymi szkodnikami fermentacji acetonowo-butanolowej są bakteriofagi atakujące *C. acetobutylicum.* W walce z tym rodzajem zakażeń wykorzystuje się szczepy fagooporne. Znane są różne sposoby immunizacji *Cl. acetobutylicum* (Beesch 1952, Underkofler i Hickey 1954).

BADANIA WŁASNE

Celem niniejszej pracy było określenie stopnia zakażenia bakteriami i drożdżami zacierów fermentacji acetonowo-butanolowej oraz zbadanie wpływu zakażeń na przebieg fermentacji. Materiał badany stanowiły

próbki zacierów fermentujących pobrane z zakładu przemysłowego w pięciu terminach w okresie od 28 stycznia do 21 listopada 1955 r. Ogółem pobrano 17 próbek zacierów, w tym 8 o normalnym przebiegu fermentacji oraz 9 z zacierów, w których zauważono zahamowanie wytwarzania rozpuszczalników. Wysiewy dokonywano po około 24 godzinach od chwili pobrania prób z zakładu przemysłowego.

METODYKA

Badanie ilościowe i jakościowe stopnia zakażeń zacierów przeprowadzono:

1) metodą płytkową, stosując pożywkę Blickfeldta (Joergensen 1948) oraz brzeczkę o gęstości 7° Blg z agarem. Próbki zacierów wysiewano w rozcieńczeniach od 1 : 1000 do 1 : 1 000 000 (zależnie od ilości drobnoustrojów w zacierze), w pięciu powtórzeniach;

2) wysiew na obecność beztlenowców prowadzono metodą „giętych rurek" w pożywce Daniela, Walleya i Petersona (1939) z dodatkiem 2% agaru. Metoda ta polega na przygotowaniu rurki szklanej zygzakowato powyginanej, której jeden koniec wyciągnięty jest w płomieniu (podobnie jak koniec pipetki pasteurowskiej) i zatopiony, drugi zaś, zamknięty watą. Tak sporządzone rurki poddawano sterylizacji termicznej, po czym materiał wysiewany pobierano razem z rozgrzaną pożywką agarową przez utrącony cienki koniec rurki (pożywkę agarową chłodzono do około 40° i mieszano dokładnie z próbką badanego zacieru w określonych rozcieńczeniach). Wygięcia rurki miały na celu zabezpieczenie przed ewentualnym rozsadzeniem pożywki agarowej przez gazy wytwarzane w czasie rozwoju kolonii bakteryjnych. Po napełnieniu rurki rozgrzaną pożywką agarową, cieńszy koniec rurki zatapiano w ogniu.

W celu wyizolowania czystych kultur bakterii beztlenowych rurkę przecinano w pobliżu powstałej kolonii i następnie igłą przenoszono część kolonii do probówki z pożywką płynną dla beztlenowców.

Posługując się przytoczonymi powyżej metodami wyizolowano 41 szczepów drobnoustrojów. Czyste kultury poddano następującym badaniom diagnostycznym:

1. Barwienie metodą Grama;
2. Tworzenie przetrwalników: podgrzewano zawiesinę bakteryjną do około 80° przez 15 minut, następnie przesiewano na pożywkę z brzeczką, Blickfeldta lub pożywkę dla beztlenowców, zależnie od tego z jakiego podłoża pochodził dany szczep; przetrwalniki barwiono metodą Aujeszkyego;
3. Wzrost na wodzie drożdżowej w temperaturze 30° (dla beztlenowców — 37°);
4. Wzrost na ziemniaku w temperaturze 30° (dla beztlenowców — 37°);
5. Wzrost i własności kwaszące bakterii w 1-procentowych roztworach następujących węglowodanów: arabinoza, ksyloza, glikoza, maltoza, laktoza, sacharoza, w obecności purpury bromokrezolowej jako wskaźnika. Do pożywki dodawano 0,5% peptonu jako źródła azotu;
6. Stosowano: a) rozpuszczanie żelatyny, b) wydzielanie siarkowodoru, c) wydzielanie indolu, d) redukcja azotanów, e) wytwarzanie amoniaku;
7. Działanie bakterii na mleko (Fred i Tanner 1947);
8. Wzrost na pożywce syntetycznej — stosowano podłoże Čapeka;
9. Reakcja jakościowa na kwas mlekowy (Fiedorow 1951).

Tabela I

Stan ilościowy mikroflory w badanych zacierach fermentacji acetonowo-butanolowej, na 1 ml
Numbers of microorganisms in the mashes of the acetone-butanol fermentation, per 1 ml

Nr próby Sample No	Czas fermentacji w godzinach Fermentation period (hours)	Ilość bakterii mlekowych Number of lactic acid bacteria	Ilość drożdży Number of yeasts	Ilość bakterii beztlenowych Number of anaerobic bacteria	Ilość bakterii tlenowych niekwaszących Number of aerobic bacteria non-acidifying	Bakterie mlekowe w % ogólnej ilości drobnoustrojów Per cent of lactic acid bacteria per total count	Kwasowość zacieru w ml 0,1 N NaOH na 10 ml zacieru acidity, ml of 0,1 N NaOH per 10 ml of the mash		Aceton w mg na 100 ml zacieru Acetone mg per 100 ml of mash	Butanol w mg na 100 ml zacieru Butanol mg per 100 ml of mash
							przed fermentacją before fermentation	po zakończeniu fermentacji after fermentation		
1	12	—	—	1 000 000	100	—	3,4	4,1	323	166
2	14	200	350	1 151 200	500	0,017	4,3	5,5	379	—
3	18	150 200	51 140	1 020 000	21 570	12,08	4,0	3,3	457	—
5	33	162 000	50 100	1 420 000	123 060	9,23	3,3	3,8	430	—
6	42	162 000	50 100	1 000 000	21 270	12,32	3,5	3,0	441	—
7	44	-	64	530 000	76 588	—	3,3	2,0	465	—
9	58	73 000	2 450	180 000	—	28,57	3,8	3,8	272	—
10	70	12 940	6 700	136 500	100	8,28	5,8	9,0	200	113
11	71	26 000	10 570	100 000	—	19,0	4,1	5,1	285	—
12	92	300	7 600	8 000	200	1,87	3,7	10,8	102	330

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Spośród wszystkich (17) prób zacierów fermentacji acetonowo-butanolowej, pobranych w różnym czasie, w dziesięciu przeprowadzono ilościową analizę mikrobiologiczną. W tej liczbie 6 stanowiło zaciery, w których fermentacja przebiegała normalnie, 4 zaś pochodziły z zacierów, w których zauważono w czasie fermentacji zahamowanie wytwarzania rozpuszczalników. Wyniki tych oznaczeń zebrano w tabeli I. Próbki pobierane były w różnych okresach trwania fermentacji, przy czym najkrótszy czas fermentacji wynosił 12 godzin (próbka Nr 1), najdłuższy zaś 92 godzin (próbka Nr 12). W niektórych próbkach nie znaleziono bakterii mlekowych (p. tabela I, pozycja 1, 7, kol. 4).

Nie stwierdzono zależności między ilością bakterii fermentacji mlekowej a stopniem zakwaszenia zacierów w okresie pobierania próbki i po zakończeniu fermentacji (p. tabela I, pozycja 1, 3, 6, kol. 9 i 10).

Stwierdzono, że zakażenie bakteriami mlekowymi nie miało wpływu na wydajność acetonu. Zaciery, w których znaleziono największą ilość tych bakterii, wykazywały wysokie zawartości acetonu (p. tabela I, próba 3 i 6, kol. 4 i 11). Inne zaś, w których znaleziono niewielką ilość tych drobnoustrojów, zawierały mniej tego rozpuszczalnika (p. tabela I, pozycja 1, 2, 10, 12 kol. 4 i 11). Prawdopodobnie występujące w badanych próbkach zacierów szczepy bakterii mlekowych należały do grup niezbyt szkodliwych dla produkcji rozpuszczalników.

Największą ilość komórek drożdży w 1 ml zacieru znaleziono w próbkach Nr 3 i 6; wynosiła ona około 50 tysięcy komórek. Zaciery te odznaczały się wysoką zawartością acetonu. Obecność drożdży w tych ilościach nie wpływała zatem ujemnie na wydajność acetonu (patrz tabela I, pozycje 3 i 6, kol. 5 i 11).

Podobnie inne bakterie tlenowe nie wpływały ujemnie na wytwarzanie rozpuszczalników przez *Cl. acetobutylicum* (p. tabela I, kol. 7 i 11).

Ilość bakterii beztlenowych w badanych zacierach wahała się od 8 tys. do około 1,5 mln w 1 ml. Były one reprezentowane głównie przez *Cl. acetobutylicum*. Próbki, w których znaleziono najmniejszą ilość komórek bakterii beztlenowych, zawierały też najmniej acetonu (p. tabela I, pozycje 9, 10, 11, 12 kol. 6 i 11)*.

Z wszystkich (17) próbek zacierów wyizolowano ogółem 41 szczepów, które po oczyszczeniu poddano diagnostyce według K r a s i l n i k o w a

* Dane dotyczące ilościowego oznaczenia mikroflory w badanych zacierach opracowała mgr Z. Woś.

(1949). W toku pracy 6 szczepów zaginęło. Trzy spośród nich wyrosły na podłożu dla bakterii mlekowych, lecz po pewnym czasie utraciły zdolność do wzrostu na tej samej pożywce. Były to: szczep B_t (ziarniaki) i szczepy Nr 2 i 9 (drobne, krótkie pałeczki). Z pozostałych szczep *B* wyizolowany został z hodowli dla beztlenowców; po przeniesieniu go na pożywkę płynną dla beztlenowców, szczep ten nie rozwinął się. Dwa ostatnie szczepy: *p* i *r* rozwijały się bardzo słabo na podłożach agarowych.

Wyniki przeprowadzonych prób diagnostycznych z pozostałymi 35 szczepami zebrano w tabeli II.

Spośród badanych szczepów największą część (8 szczepów — ponad 20%) stanowią bakterie fermentacji mlekowej. Większość z nich pochodzi z zacierów, w których proces fermentacji uległ zahamowaniu. Prawdopodobnie bakterie te hamowały proces fermentacji acetonowo-butanolowej.

Wśród bakterii niekwaszących zwraca uwagę stosunkowo duża ilość bakterii przetrwalnikujących.

Z podłoża dla bakterii beztlenowych wyizolowano 3 szczepy zbliżone własnościami do *Cl. acetobutylicum* oraz 3 szczepy drożdżaków. Najmniej typowe wydają się być zakażenia pakietowcami.

WPŁYW WYOSOBNIONYCH FORM BAKTERII NA WYDAJNOŚĆ ACETONU

W celu określenia wpływu zakażeń bakteriami wyosobnionymi w niniejszej pracy na wydajność fermentacji acetonowo-butanolowej, przeprowadzono doświadczenie polegające na zakażaniu prób fermentacyjnych niektórymi spośród wyizolowanych bakterii. W tym celu sporządzano zacier melasowy wzbogacany dodatkiem mąki jęczmiennej (1%) i fosforanu dwuamonowego (0,1%). Próby fermentacyjne zawierały po 150 ml jałowego zacieru, który zaszczepiano kulturą *Cl. acetobutylicum* wyhodowaną na zacierze jęczmiennym w ciągu około 24 godzin. Szczepy kultur zakażających hodowano na skosach agarowych, skąd następnie spłukiwano je jałową wodą destylowaną. Ilości wprowadzonych do prób komórek kultur *Cl. acetobutylicum* i szczepów zakażających określano w komorze Bürkera. Próby fermentacyjne inkubowano w temperaturze 37°. Po zakończeniu fermentacji oznaczano w zacierze zawartość acetonu metodą Messingera oraz kwasowość.

Wyniki zebrano w tabeli III. Z danych zawartych w niej można stwierdzić, że użyte szczepy bakterii fermentacji mlekowej wywierały wyraźnie ujemny wpływ na fermentację acetonowo-butanolową. Jest to zwłaszcza widoczne przy zakażeniu szczepem *d*. Szczep ten dodany do próby fermentacyjnej w minimalnej ilości (0,014% w stosunku do ilości komórek *Cl. acetobutylicum*) spowodował obniżenie wydajności acetonu

Tabela III

Wpływ zakażeń zacierów fermentacji acetonowo-butanolowej na wydajność acetonu
The effect of contamination on the acetone-butanol fermentation

Szczep Strain	Kwasowość zacieru po 62 godzinach fermentacji Acidity of the mash after 62 hours of fermentation		Wydajność acetonu na 100 ml przefermentowanego zacieru, mg Yield of acetone, mg per 100 ml of the mash	Wydajność w stosunku do prób kontrolnych, w % Yield, per cent of the control	Ilość komórek drobnoustrojów wniesionych do próby fermentacyjnej na 1 ml zacieru Number of microorganisms inculated per 1 ml of the mash	Ilość wysiewanych komórek mikroflory postronnej w % ilości komórek *Cl. acetobutylicum* w próbie fermentacyjnej Number of microorganisms inculated per 1 ml expressed as per cent of number of *Cl. acetobutylicum* cells
	w ml 0,1 N NaOH na 10 ml zacieru ml 0,1 N NaOH per 10 ml of the mash	w stopniach Dbr				
Kontrola — Control	3,37	0,67	428,0	100,0	$5,4 \times 10^6$	0
Szczep *3* — Strain *3*	3,45	0,69	418,0	97,6	1×10^6	18,5
Szczep *8* — Strain *8*	3,37	0,67	423,0	98,8	$1,09 \times 10^6$	20,1
Kontrola — Control	3,72	0,74	413,0	100,0	$3,63 \times 10^5$	0
Szczep *10* — Strain *10*	10,20	2,04	106,5	25,7	$2,27 \times 10^5$	6,2
Szczep *11* — Strain *11*	10,20	2,04	94,0	22,7	$2,14 \times 10^5$	5,8
Szczep *13* — Strain *13*	10,8	2,16	102,0	24,7	$2,3 \times 10^5$	6,5
Kontrola — Control	2,87	0,57	454,0	100,0	8×10^5	0
Szczep *9* — Strain *9*	5,72	1,14	47,0	10,4	$6,7 \times 10^5$	8,3
Kontrola — Control	1,84	0,37	447,5	100,0	1×10^9	0
Szczep *a* — Strain *a*	1,31	0,26	370,0	82,7	$2,7 \times 10^7$	2,6
Szczep *d* — Strain *d*	14,10	2,82	62,5	13,9	$1,37 \times 10^4$	0,014

do niespełna 14% w stosunku do wydajności w próbach kontrolnych. Obniżka wydajności acetonu wywołana jest prawdopodobnie nadmiernym wzrostem kwasowości, hamującym wzrost *Cl. acetobutylicum*. Przyrost kwasowości wynosił w porównaniu z kwasowością prób kontrolnych 2,5° Dbr (p. tabela III, pozycja 12, kol. 3 i 4).

W obecności pozostałych szczepów fermentacji mlekowej (szczepy Nr 10, 11 i 13) wydajność acetonu była nieco wyższa (średnio ponad 24%), mimo że ilość wprowadzonych bakterii wynosiła około 6% ilości komórek *Cl. acetobutylicum* (p. tabela III, pozycje 5, 6 i 7, kol. 5, 6 i 8). Słabsze hamowanie wzrostu *Cl. acetobutylicum* uwarunkowane jest prawdopodobnie słabszym zakwaszeniem zacierów przez te drobnoustroje, bo sięgającym około 1,5° Dbr w stosunku do prób kontrolnych (p. tabela III, pozycje 5, 6 i 7, kol. 3 i 4).

Minimalny wpływ na wydajność acetonu obserwuje się natomiast przy zakażaniu zacierów bakteriami niekwaszącymi, tego typu co szczep Nr 3 i Nr 8. Przy silnym stosunkowo zakażeniu (około 20% w stosunku do ilości komórek *Cl. acetobutylicum*) wydajność acetonu spada tylko nieznacznie; o 1,2% przy zakażeniu szczepem Nr 8 i o 2,4% przy zakażeniu szczepem Nr 3 (p. tabela III, pozycje 2 i 3, kol. 5 i 6). Szczepy te nie zmieniały w jakiś istotniejszy sposób kwasowości podłoża.

Znaczny spadek wydajności acetonu wywoływało zakażenie zacierów szczepem Nr 9 (drożdżak). Efekt ten zawdzięczać należy, być może, dużej dawce zakażającej: około 670 tysięcy komórek drożdżowych na 1 ml zacieru, podczas gdy maksymalna ilość drożdżaków wykrywana w 1 ml zacierów przemysłowych (p. tab. I, poz. 3, 5, 6, kol. 5) wynosiła około 50 tysięcy komórek, a więc 13,5 razy mniej niż w próbie doświadczalnej.

* * *

1. W pracy niniejszej przeprowadzono jakościową analizę mikrobiologiczną 17 próbek zacierów fermentacji acetonowo-butanolowej. W 10 próbkach dokonano ilościowych oznaczeń drobnoustrojów występujących w zacierze.

2. Próbki, w których znaleziono małe ilości komórek bakterii beztlenowych, odznaczały się na ogół niższą zawartością acetonu.

3. W próbkach Nr 3, 5 i 6 zawierających znaczne ilości komórek bakterii mlekowych nie stwierdzono ujemnego wpływu tych bakterii na produkcję rozpuszczalników (p. tabela I, pozycje 3, 5 i 6, kol. 4 i 11).

4. Zakażenia bakteriami nie powodującymi zakwaszania i drożdżami w ilości około 50 tysięcy komórek w 1 ml zacieru nie wpływały ujemnie

na wydajność acetonu. Jednak szczep Nr 9 (drożdżak), użyty w wyższej koncentracji, silnie obniżał wydajność acetonu (p. tabela III).

5. Wyizolowane szczepy bakteryjne zbliżone były swymi własnościami do następujących gatunków: *Lactobacillus mannitopoeus, L. buchneri, L. leichmannii, L. fermentatae, Streptococcus lactis, S. liquefaciens, Bacillus mesentericus, B. virgulus, B. subtilis, B. zoogleicus, B. polymyxa, Sarcina lutea, S. tetragena, S. subflava, Bacterium delmarvae, Micrococcus hauserii, M. citreus, Pseudobacterium variabilis* (p. tabela II).

6. Bakterie fermentacji mlekowej po wprowadzeniu ich do zacieru podnosiły wybitnie jego kwasowość i wpływały ujemnie na wydajność acetonu (zwłaszcza szczep *d* — p. tabela III).

7. Bakterie nie mające zdolności zakwaszania podłoża wprowadzane do zacieru nawet w znacznych ilościach (np. około 20% w stosunku do ilości komórek *Cl. acetobutylicum*) nie hamowały procesu fermentacji acetonowo-butanolowej i nie obniżały wydajności acetonu.

LITERATURA

Beesch S. C., 1952: Acetone-butanol fermentation of sugars. *Ind. Eng. Chem.*, **44** : 7.

Beesch S. C., 1953: Acetone-butanol fermentation of starches. *J. Appl. Microbiol.*, **1** : 85.

Bolcato V., 1952: La chimica delle fermentazione. Bolonia.

Daniel C. E., Walley D. W., Peterson W. H., 1939: *J. Bact.* **37** : 259.

Fiedorow M. W., 1951: Rukowodstwo k prakticzeskim zaniatiam po mikrobiołogii. Moskwa. Wyd. II.

Fred E. B., Peterson W. H., Mulvania M., 1925: The effect of lactic bacteria on the acetone-butyl-alcohol fermentation. *J. Bact. 11.*

Fred E. B., Peterson W. H., Caroll W. R., 1925: The occurence of a red pigment producing organism in corn masn of the acetone-butyl-alkohol fermentation. *J. Bact.*, **10** : 1.

Fred W., Tanner, Ph. D., 1947: Practical Bacteriology, New York.

Joergensen A., 1948. Microorganisms and Fermentation. London. 522.

Krasilnikow N. A., 1949: Opredilitiel baktierii i aktinomicetow. Moskwa—Leningrad.

Plewako E. i Giwartowski R., 1952: Technologia drożdżownictwa. PWT Warszawa.

Prescott S., Dunn C., 1952: Industrial Microbiology (tłumaczenie rosyjskie), Moskwa.

Underkofler L. A., Hickey R. J., 1954: Industrial Fermentations., New York.

Z. Ilczuk

BACTERIAL CONTAMINATION IN THE ACETONE-BUTANOL FERMENTING MASHES

Summary

The aim of this paper is a quantitative and qualitative determination of bacterial contaminants occuring in the fermenting acetone-butanol mashes, and the examination of the effect of these contaminants on the yield of acetone.

Eighteen different bacterial strains were isolated from 17 samples of mashes. They were: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Bacterium*, *Sarcina*, *Micrococcus*, *Pseudobacterium* and 3 strains of yeast.

The effect of these isolated strains on acetone production was different. *Lactobacillus* inhibited fermentation very strongly (for instance, *L. mannitopoeus* reduced the yield of acetone by 87 per cent as compared to the controls) while the effect of non acid-forming bacteria on the yield of acetone was minimal. Yeast added to mashes in great quantity (about 670 000 yeast cells per milliliter) diminished the yield of acetone to some extent.

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA
1958, 7, 159—176

BIBLIOGRAFIA MIKROBIOLOGII POLSKIEJ ZA II PÓŁROCZE 1957 r.

BIBLIOGRAPHY OF POLISH PAPERS ON GENERAL, AGRICULTURAL AND TECHNICAL MICROBIOLOGY, COVERING PERIOD: 1 JULY — 31 DECEMBER 1957

I ALFABETYCZNY WYKAZ PRAC — ALPHABETICAL INDEX

1. Anczykowski S.: W sprawie standaryzacji barwionej zawiesiny *Br. abortus* do aglutynacji, I. Wybór szczepu. *Med. Wet.*, 1957, 10 : 591. J. polski. O.
   Amałowicz F. — patrz Hornung S., poz. 44.
2. Balicka N. i Sobieszczański J.: Gleba jako filtr bakteryjny przy rolniczym wykorzystaniu ścieków miejskich. Der Boden als Bakterienfilter bei der landwirtschaftlichen Verwertung der städtischen Abwässer. *Acta Microbiol. Polon.*, 1957, 6 (3) : 269—287. Tabel — 12, rysunek — 1. J. polski (Zusammenfass. Deutsch). I. J.
3. Balicka N. i Sobieszczański J.: Wpływ gleby na *Escherichia coli* wprowadzone ze ściekiem. *Acta Microbiol. Polon.*, 1957, 6 (3) : 289—292. Tabel — 3, fotografii — 3. J. polski. Oryg. I.
4. Bagdasarian G. i współpracownicy: Wrażliwość układu oddechowego maczugowców błonicy na cyjanek. *Acta Physiol. Polon.*, 1957, 8 (3—3a) : 279. J. polski. Komunikat. C. G.
   Bara B. — patrz Skurska Z. poz. 126.
5. Baranowska J. and Shugar D.: The role of proteins in, and the question of localisation of, the Gram reaction. Rola białek i zagadnienie lokalizacji reakcji przy barwieniu metodą Grama. *Acta Microbiol. Polon.*, 1957, 6 (2) : 107—114. Fotografii — 5. Englisch. (Streszczenie polskie). Oryg. A.
6. Barta K.: Ocena badań bakteriologicznych w rozpoznawaniu błonicy. *Wiadomości Lek.*, 1957, 10 (13) : 583—588. Rysunek — 1. J. polski. O.
   Bawolska M. — patrz Berbeć J. poz. 7.
   Becla E. patrz Kryński St. poz. 65.
7. Berbeć i Bawolska M.: Badania nad inaktywacją wirusa mozaiki zwykłej (tobacco mosaic virus) przy pomocy nagrzewania. Investigations on inactivation of tobacco mosaic virus by means of dry-heating. *Hodowla roślin, aklimatyzacja i nasiennictwo*, 1957, 1 (1) : 125—134. Tabele — 3. J. polski. Oryg. (Summ. English, Russian). O. N. H.
   Biel J. — patrz Rzucidło L. poz. 121.
8. Bodalski T. i współpracownicy. Antyfagowe działanie alkaloidów *Helidonium majus* L. The antiphage activity of some alcaloids of *Helidonium ma-*

jus L. *Dissert. Pharm.*, 1957, 9 (14) : 273—286. Tabel — 11, rysunków — 2. J. polski. (Summary English). G. H.

9. Bodalski T. i Rządkowska H.: Wymoczkobójcze działanie niektórych alkaloidów *Helidonium majus* L. The infusoriocidal action of some alkaloids of *Helidonium majus* L. *Dissert, Pharm.*, 1957, 9 (4) : 265—271. Tabela —1, rysunki — 2. J. polski (Summary English). G.

10. Borecki Z.: Badania nad biologią patogena grusz, grzyba *Venturia pirina* Aderh. (*Fusicladium pirinum* Fuck.). Studies on perithecial and conidial stage of pear scab fungus *Venturia pirina* Aderh. (*Fusicladium pirinum* Fuck.). *Acta Agrobot.*, 1957, 6 : 59—116. Tabel — 14, rysunków — 7. J. polski (Summary English). N.
Borowiecka B. — patrz Woźnicka W. poz. 142, 143.
Borowiecka A. — patrz Żebrowski T. poz. 149.

11. Borowski E. and Konopka J.: Investigation on the chemical structure of tetaine. I. Electrophoretic Studies. Badania nad budową chemiczną tetainy. I. Studia elektroforetyczne. *Biul. Inst. Med. Morsk.*, Gdańsk, 1957, 8 (3) : 215—219. Rysunki — 3. English (Streszczenie polskie). G.

12. Borowski E.: Improved method of tetaine production. Part II Obtaining of the pure antibiotic. Ulepszona metoda otrzymywania antybiotyku tetainy. Cz. II. Otrzymywanie czystego antybiotyku. *Biul. Inst. Med. Morsk.*, Gdańsk. 1957, 8 (3/4) : 205—214. Rysunków — 9. English (Streszczenie polskie). G.

13. Brill J. i Gołębiowski S.: Szczepy *Brucella suis* wydzielone ze świń po raz pierwszy w Polsce. The first isolation of *Brucella suis* from pigs in Poland. *Acta Microbiol. Polon.*, 1957, 6 (2) : 115—132. Tabele — 2. J. polski (Summary English). Oryg. F.

14. Brill J., Mikulaszek E., Truszczyński: Immunochemical investigations into the antigenic structure of the erysipeloid bacterium. *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Biol.*, 1957, 5 (12) : 405—411. Tabel — 5. English. B
Broda Z. — patrz Hornung S. poz. 44.
Broda Z. — patrz Pręgowski W. poz. 118.

15. Buczkowski Z.: *Salmonella* types in Poland and some remarcs on their serological diagnosis. Typy *Salmonella* rozpoznane w Polsce i niektóre uwagi o ich serologicznej diagnostyce. *Biul. Inst. Med. Morsk.*, Gdańsk. 1957, 8 (3/4) : 195—204. Tabele — 4. English. (Streszczenie polskie). F.

16. Buczowska Z.: Wskaźnik coli i bacteriologiczne normy sanitarne w badaniu wody. Coli index and bacteriological sanitary norms in the examination of water. *Roczn. PZH.*, Warszawa, 1957, 3 : 289—296. Tabele — 3. J. polski (Summary English, Russian). J.

17. Buczowska Z.: Typy *Salmonella* w Polsce i niektóre uwagi o ich serologicznej diagnostyce. Salmonella types in Poland and some observations on their serological diagnosis. *Przegl. Epidemiol.*, 1957, 3 : 213—219. Tabele — 4. J. polski (Summary English). B.

18. Buczowska Z. and Dąbrowska J.: Hygienic evaluation of ships water supplies. Higieniczna ocena wodociągów okrętowych. *Biul. Inst. Med Morsk.*, Gdańsk. 1957, 8 (3/4) : 221—224. Tabele — 2. English (Streszczenie polskie). J.

19. Brzeziński S. i współpracownicy: Zastosowanie mieszanki czarnuszki i kminku w celu przedłużenia trwałości ogórków konserwowych. Emploi de la mielle et du cumin en vue d'une augmentation de la durabilité des conserves

de concombres. *Przem. Spoż.* 1957, 11 : 470—473. Tabele — 3. J. polski (Summary English, French, Russian, German). K.

20. Cabejszek I. i współpracownicy: Badania higieniczno-sanitarne rzeki Wisły. Sanitary and hygienic investigations of Vistula river within Warsow region. *Roczn. PZH*, Warszawa, 1957, (4) : 325—340. Tabele — 2, rysunki — 4. J. polski. (Summary English, Russian). J.

21. Chodkowski A. i współpracownicy: Dalsze badania nad odmianami pałeczek *Brucella* występującymi w Polsce. Futher studies on *Brucella* variants encountered in Poland. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 1957, 9 (3) : 275—279. Tabela — 1. J. polski (Summary English). F.
Chojnowski W. — patrz Woźnicka W. poz. 142.

22. Chwistecka W. and Lalko J.: Preservation of tissue material for investigations on virus poliomyelitis. Przechowywanie w zamrożeniu materiału tkankowego do badań nad wirusem *poliomyelitis*. *Biul. Inst. Med. Morsk.*, Gdańsk, 1957, 8 (3-4) : 189—193. Tabele — 3. English (Streszczenie polskie). H, O.

23. Chyliński G. i Czarnowski A.: *Clostridium thermosaccharolyticum* jako przyczyna psucia się konserw rybnych. *Med. Wet.*, 1957, 13 (10) : 598—599. J. polski. K.
Czarnowski A. patrz Chyliński G. poz. 23.

24. Damse S. i Kłosowska T.: Jeden z przykładów wykrywania zakażenia bakteriologicznego źródeł mineralnych, płytko ujętych. *Gaz, Woda i Techn. Sanit.*, Warszawa, 1957, 31 (9) : 335—337. Tabela — 1, rysunki — 3. J. polski, J.
Dąbrowska J. — patrz Buczowska Z. poz. 18.
Dąbrowski L. — patrz Ślopek S. poz. 131, 132, 133.
Dobrzańska R. — patrz Woźnicka W. poz. 142.

25. Dożańska W.: Występowanie prątków gruźlicy w ściekach, metody wykrywania i unieszkodliwiania przy oczyszczaniu ścieków. Occurence of tubercle bacilli in sewage, methods of enumeration and effect of sewage treatment. *Roczn. PZH*, Warszawa. 1957, 8 (3) : 307—316. Tabele — 3, J. polski. J.

26. Duda J. i Kaszubiak H.: Badania nad wpływem podłoża na aktywność antybiotyczną promieniowców glebowych. Studies on the influence of the nutrient medium on antibiotic activity of *Streptomyces*. *Acta Microbiol. Polon.*, 1957, 6 (3) : 253—268. Tabel — 8. J. polski (Summary English). I. G.

27. Duda J., i współpracownicy: Badania nad występowaniem witaminu B_{12} u roślin motylkowych. Studies on the vitamin B_{12} contents of the leguminous plants. *Acta Microbiol. Polon.*, 1957, 6 (3) : 233—238. Tabel — 2. J. polski (Summary English). I.

28. Dunin-Horkawicz H., i współpracownicy: Wpływ antybiotyków *in vivo* i *in vitro* na pałeczki okrężnicy typu alfa i beta z przypadków biegunek dziecięcych. The influence of antibiotics *in vivo* and *in vitro* on *Bacterium coli* of alfa and beta type ascertained in cases of infantile diarrhoeas. *Pediatria Polska*, 1957, 12 : 1319—1327. J. polski (Summary English). G.
Dzierżyński B. — patrz Pezacki W. poz. 115.

29. Dzięcioł J. i Sobieszczański J.: Orientacyjne porównawcze badania nad zawartością niektórych składników pokarmowych i mikroflory w glebie o różnym stopniu kultury. Orientational comparative investigations on the contents of some food elements and microflora in soils of different culture degree. *Zesz. Nauk. WSR we Wrocławiu. Roln. II*, 1957, (8) : 135—145. Tabel — 4. J. polski (Summary English, Russian). I.

30. Dzioba A.: Wpływ antybiotyków na florę drobnoustrojową pochwy. Influence of antibiotics on the microbial flora of the vagina. *Ginekol. Pol.*, 1957, 28 (5) : 519—524. Tabela — 1. J. polski (Summary English). G.
31. Dyner E. i Okolska W.: Odczyn hemaglutynacji biernej jako wskaźnik zakażenia gruźliczego. A passive hemaglutination test as an indicator of tuberculous infection. *Gruźlica*, 1957, 25 (12) : 937—946. Tabele — 3. J. polski (Summary English). O.
32. Elbowicz Z. i współpracownicy: Metoda otrzymywania koncentratu witaminu B_{12} z osadu czynnego ścieków miejskich. Method of obtaining vitamin B_{12} in concentrates from activated sewage sludge. *Acta Polon. Pharm.*, 1957, 15 (5) : 345—351. Tabela — 1, rysunki — 2. J. polski (Summary English). J. L.
33. Falewiczowa H.: Badania nad poprawieniem jakości i trwałości półtusz przez zastosowanie ochron po uboju. *Biul. Inst. Przem. Spoż.*, Warszawa, 1957, 7 (5/6) : 451—452. J. polski. Oryg. K.
Foglowa A. — patrz Makower H. poz. 88.
Fast J. — patrz Stanecki J. poz. 129.
Gaj J. — patrz Pezacki W. poz. 115.
34. Gauguscb Z. i Kafel S.: Wpływ dodatku hydrolizatu keratyny do pożywek na wzrost drobnoustrojów. *Med. Wet.*, 1957, 13 (10) : 611—613: Fotografii — 4. J. polski. O.
35. Gąsior E.: Transaminaza ASP—GLU u *Mycobacterium phlei*. (Komunikat). *Acta Physiol. Polon.*, 1957, 8 (3—3a) : 331—332. J. polski. C.
36. Gąsior E. i Obojska K.: Przygotowanie ekstraktów bakteryjnych do badań enzymatycznych. *Post. Biochemii*, 1957, 3 (3—4) : 308—334. Rysunki — 3, fotografii — 10. Pozycje lit. 178. J. polski. Przegl. C. O.
37. Geyer-Duszczyńska i Janota-Bassalik L.: Wpływ promieniowania na drobnoustroje. *Post. Biochemii*, 1957, 3 (3—4) : 289—307. Pozycje literatury. 31. J. polski. Przegl. G.
Gibiński K. — patrz Skurska Z. poz. 126.
Gofron W. — patrz Pręgowski W. poz. 118.
Gołębiowski S. — patrz Brill J. poz. 13.
Górecka H. — patrz Kosewska L. poz. 58.
38. Górzyńska J.: Szybkie oznaczania trwałości drożdży prasowanych. *Biul. Inst. Przem. Spoż.*, 1957, 7 (3/4) : 362—363. Tabele — 1. J. polski. K.
39. Górzyńska J.: Poszukiwanie nowych ras drożdży na drodze hybrydyzacji. Proba obrazowanija nowych ras drożżej putiem ich skrieszczivania. *Acta Microbiol. Polon.*, 1957, 6 (2) : 189—209. Tabel — 7, rysunki — 3. J. polski (Rez. rosyjski). Oryg. L.
Grudzień C. — patrz Jaskólski H. poz. 49.
Harasymowicz M. — patrz Mordarski M. poz. 101.
40. Hattowska H. i Kalinowski L.: Ocena produkcji masła w świetle badań mikrobiologicznych przeprowadzonych w Instytucie Przemysłu Mleczarskiego. *Przegl. Mlecz.*, Warszawa, 1957, 12 : 20—22. Tabela — 1. J. polski. K.
41. Hauke-Pacewiczowa T.: Wpływ środka owadobójczego HCH na mikroflorę gleby. Influence of the insecticide BHC on soil microflora. *Roczn. Nauk Roln.*, 1957, 70—A (4) : 641—657. Tabele — 4. J. polski (Summary English, Russian). I.
42. Heindrich Z. i Szczerbiński B.: Ocena bakteriologiczna cyklu przetwórczego konserwy wieprzowej i wołowej. Bacteriologic evaluation of cycle of manufacturing canned porc and beef. *Roczn. PZH*, Warszawa, 1957, 4 : 391—400. Tabele — 4, rysunki — 2. J. polski (Summary English, Russian). K.

43. Hejłasz Z. i współpracownicy: Wpływ przyżyciowego podawania penicyliny zwierzętom rzeźnym na przedłużenie trwałości mięsa. Influence of supravital administration of penicillin to slaughter animals on the prolongation of the preservance of meat. *Med. Wet.*, 1957, 13 (11) : 657—662. Tabel — 5, rysunki — 2. J. polski (Summary English, Rezjume Russian). K. G.
44. Hornung S. i współpracownicy: Wyniki zespołowych badań nad wpływem kwasu bromo-salicylo-hydroksamowego (T_{40}) na lekooporność u gruźlicy. Results of a team research on the effect of bromosalicyl-hydroxamic acid T_{40} on the drugresistance in tuberculosis. *Gruźlica*, 1957, 25 (9) : 701—708. Tabele — 4, rysunek — 1. J. polski (Summary English). G.
45. Hulanicka D.: Cykl pentozowy u maczugowców błonicy. (Komunikat). *Acta Physiol. Polon.*, 1957, 8 (3—3a) : 358. J. polski. C.
Hulanicka D. — patrz Bagdasarian G. poz. 4.
46. Iskierko J.: Wykorzystanie azotu nieorganicznego przez prątki *BCG* szczepu brazylijskiego Moreau do syntezy wolnych aminokwasów. Utilizing inorganic nitrogen by the Moreau's Brazilian *BCG* strain for synthesis of free aminoacids. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9 (4) : 369—374. Tabela — 1. J. polski (Summary English). C.
Iskierko J. — patrz Krzeczkowska I. poz. 67.
47. Jakubowska J. i współpracownicy: Mikrobiologiczne badania kazeiny włókienniczej oraz wiskozy. Mikrobiologische Untersuchungen von Kunstfaserkasein und deren Spinnlösungen. *Zesz. Nauk. Polit. Łódzkiej*, Chemia Spożywcza 2, 1957, 2, 15—41. Tabele — 4, wykresy — 2, rysunek — 1. J. polski (Summary German, Russian). M.
48. Jankowska H.: Bakteriofagi i występowanie ich w przetwórstwie serowarskim. *Przegl. Mlecz.*, Warszawa, 1957, 8—9 : 35—37. J. polski. Przegl. K.
Janota-Bassalik L. — patrz Geyer-Duszyńska poz. 37.
49. Jaskólski H. i współpracownicy: Półsyntetyczne podłoże płynne do produkcji antygenu różycowego oraz niezjadliwej kultury różycowej. *Med. Wet.*, 1957, 13 (11) : 667. Tabela — 1. J. polski. O.
Jelińska M. K. — patrz Orłowa T. poz. 108.
Jędrzejewska-Tkaczowa A. — patrz Mordarski M. poz. 101.
Jóźkiewicz S. — patrz Elbowicz Z. poz. 32.
50. K. K. (Korzeniowski K.): Bakteriologiczna ocena jakości wody w zakładach i zlewniach mleka na terenie powiatu słupskiego. *Przegl. Mlecz.*, Warszawa, 1957, 7 : 20—21. Tabela — 1. J. polski. J.
51. Kadłubowski R. i Rostkowska J.: Wrażliwość na atebrynę klonu *Paramaecium caudatum* Ehrbg. adaptowanego do roztworów chlorku sodu. (Komunikat). *Acta Physiol. Polon.*, 1957, 8 (3—3a) : 366—367. J. polski. G. E.
Kafel S. — patrz Gaugusch S. poz. 34.
Kalinowski L. — patrz Hattowska H. poz. 40.
52. Kańtoch M.: Wirusy bakteryjne w świetle badań izotopowych. *Kosmos*, Ser. *A*, 1957, (4) : 375—380 J. polski. Przegl. popul., H.
53. Kańtoch M.: Własności serologiczne bakteriofagów anty-*Vi* pałeczki durowej. Serological properties of anti-*Vi* bacteriophages of typhoid bacilli. *Arch. Immunol. Terap. Dośw.*, 1957. 5 : 129—165. Tabel — 27, rysunki — 2. J. polski (Summary English, Rezjume Russian). H.
Kańtoch M. — patrz Bodalski T. poz. 8.
54. Kasperowicz J.: Wpływ tiosemikarbazonu, hydrazydu kwasu izonikotynowego i streptomycyny na czynnik wiązkowy („cord factor") prątków gruźlicy. The influence of tiosemicarbazone, izonicotinic hydrazide and streptomy-

cin on the "cord factor" of *Mycobacterium tuberculosis*. *Gruźlica*, 1957, 25 (12) : 947—958. Tabel — 3, fotografii — 6. J. polski. (Summary English). A. C. G.

55. Kaszubiak H. i współpracownicy: Badania nad wytwarzaniem i składem kobalamin u *Rhizobium meliloti*. Studies on the production and structure of cobalamins in *Rhizobium meliloti*. *Acta Microbiol. Polon.*, 1957, 6 (3) : 239—251. Tabele — 2, rysunek — 1. J. polski (Summary English). C.

Kaszubiak H. — patrz Duda J. poz. 26.
Kawecki Z. — patrz Lachmajer J. poz. 76.
Kawecki Z. — patrz Wysoczyńska H. poz. 144.
Kawecki K. — patrz Makower H. poz. 88.
Kermenowa J. — patrz Kuryłowicz B. poz. 70.

56. Kerszman G.: Wirusy bakteryjne (Bakteriofagi). *Kosmos*, Seria *A*, 1957, (5) : 503—518. Rysunków — 10. J. polski. Przegl. popul., H.

Kędzia W. — patrz Kryński St. poz. 65.
Kleczkowska A. — patrz Bagdasarian G. poz. 4.
Kluczycki K. — patrz Paluch J. poz. 110.
Kłopotowski T. — patrz Bagdasarian G. poz. 4.
Kłosowska T. — patrz Damse S. poz. 24.

57. Kochman J.: Badania nad plamistością łodyg łubinu powodowaną przez *Phomopsis leptostromiformis* (Kühn) Bubak. Studies on the patchiness of lupine stems caused by *Phomopsis leptostromiformis* (Kühn) Bubak. *Acta Agrobiol.*, 1957, 6 : 117—143. Tabele — 4, fotografii — 13. J. polski (Summary English). N.

Kocińska I. — patrz Zabłocki B. poz. 145.
Kocot M. — patrz Hejłasz Z. poz. 43.
Konopka J. — patrz Borowski E. poz. 11.

58. Kosewska L. i Górecka H.: Badania mikrobiologiczne nowozainstalowanej linii produkcyjnej koncentratu pomidorowego. *Przetw. Owoc.-Warzywne i Konc.*, Warszawa, 1957, 6 : 304—306. Tabele — 2. J. polski. K.

Kosewska L. — patrz Brzeziński S. poz. 19.

59. Kostrzeński W. i Paklerska-Pobratym H.: Zjadliwość prątków gruźlicy. Cz I. Porównanie zjadliwości prątków gruźlicy populacji powierzchniowej i głębinowej w hodowli płynnej. The virulence of tuberculous bacilli. Part. I. A comparison of the virulence of tuberculous bacilli of surface and submerged populations in a liquid culture. *Gruźlica*, 1957, 25 (11) : 863—878. Tabele — 3, rysunków — 7. J. polski (Summary English). C.

60. Kośmiderski S.: Mikroelektroforetyczna metoda zagęszczania prątków gruźlicy. A microelectrophoretic method of concentrating tuberculous bacilli. *Gruźlica* 1957, 25 (11) : 879—883. J. polski (Summary English). C.

61. Kowalik R.: Zwalczanie owadów przy pomocy mikroorganizmów. *Biul. Inst. Barwn. Półprod.*; *Środki ochr. rośl.*, 1957, (1): 14—17. J. Polski. Przegl. N.

62. Kowalska D. i Mikucki J.: Właściwości antygenowe i biochemiczne szczepów *E. coli* typu alfa i beta wyhodowanych z przypadków biegunek dziecięcych. Antigenic and biochemical properties of *Escherichia coli* strains type alfa and beta cultured in cases of infantile diarrhoeas. *Pediatria Polska*, 1957, 6 : 671—677. Tabele — 2. J. polski (Summary English). B.

63. Kowalska-Mordarska H. i Mordarski M.: Antybakteryjne własności promieniowców. Doniesienie IV. Charakterystyka szczepu *Streptomyces 229/2702*. Antibacterial properties of *Streptomyces*. IV. Characteristics of *Strep-*

tomyces strain *229/2702*. *Arch. Immunol. Terap. Dośw.*, 1957, 5 : 263—270. Tabele — 4, fotografie — 2. J. polski (Rezjume ros., Summary English). G.

Kowszyk Z. — patrz Woźnicka W. poz. 142, 143.

Koziorowski B. — patrz Cabejszak I. poz. 20.

Kraj-Francowa I: — patrz Dunin-Horkawicz H. poz. 28.

Krawczyk A. — patrz Ostrowski W. poz. 109.

64. Křivinka R. and Styblõ K.: On chemical activity of 5-bromosalicylhydroxamic acid („T_{40}"), in combination with *INH* and streptomycin against tuberculosis. *Bull Acad. Polon. Sci., Seria Biol.*, 1957, 5 (10) : 355-356. J. angielski. G.

65. Kryński St. i współpracownicy: Badania porównawcze nad opornością gronkowców pochodzących z różnych środowisk województwa gdańskiego. Comparative investigation on the resistance of staphylococcal strains derived from different environements of the Gdańsk District. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9(4) : 351-358. Tabele — 4. J. polski (Summary English). G.

66. Krzemieniewska H.: Spis śluzowców zebranych w latach 1955—1956. A list of *Myxomycetes* collected in the years 1955—1956. *Acta Soc. Botan. Pol.*, 1957, 26 (4) : 785—811. Tabela — 1. J. polski. (Summary English). I.

67. Krzeczkowska I. i współpracownicy: Badania nad zawartością azotu aminowego i jonów potasu w przesączach hodowli brazylijskiego szczepu *BCG* Moreau hodowanego na syntetycznym podłożu Sautona. Investigations on the content of amino-nitrogen and potassium ions in culture filtrates of the Brazilian Moreau *BCG* strain, cultivated in Sauton's synthetic medium. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9 (4) : 359—367. Tabele — 4, rysunki — 3, J. polski. (Summary English). C.

Krzywy T. — patrz Stanecki J. poz. 129.

Kubica J. — patrz Rzucidło L. poz. 121.

Kucharewicz H. — patrz Mulczyk M. poz. 103.

68. Kulejewska M.: Czynność katalazy prątków gruźlicy opornych i wrażliwych na hydrazyd kwasu izonikotynowego i streptomycynę, oznaczona metodą Middlebrooka i modyfikacją własną tej metody. Catalasic activity of the tubercle bacilli resistant and susceptible to INH and streptomycin determined with Middlebrook's method and with personal modification of this method. *Gruźlica*, 1957, 25 (8) : 629 –635. Tabele — 3. J. polski (Summary English), G. C.

69. Kunicki-Goldfinger W.: Physiological adaptation of bacteria to antibiotics. *Ciba Foundation Symp.* „Drug resistance in Micro-Organisms", 1957, 251—259. Tabele — 4. English. G. E.

70. Kuryłowicz B. i Kermenowa J.: Doświadczenia wstępne nad poszukiwaniem bakterii glebowych udostępniających roślinom fosfor z trudno rozpuszczalnych fosforanów. Einleitende Versuche über Bodenbakterien, die Phosphorsäure aus schwerlöslichen Phosphaten aufschliessen. *Zesz. Nauk. SGGW w Warszawie, Roln.*, 1957, (1) : 75—84. Tabel — 6. J. polski (Zusammenfassung Deutsch). Oryg. I.

71. Kuryłowicz W. i Pasquier J.: Mikrohodowla prątków *BCG* w podłożach zawierających radioaktywny octan sodowy ($C^{14}H_3CO_2Na$). Microcultures of *BCG* in media containing radioactive sodium acetate ($C^{14}H_3CO_2Na$). *Gruźlica*, 1957, 25 (11) : 853—858. Tabela — 1, rysunek — 1. J. polski (Summary English). C.

72. Kuryłowicz W. i Pasquier J.: Prątki *BCG* wrażliwe i oporne na działanie streptomycyny. Spostrzeżenia nad pobieraniem C^{14} z radioaktywnego podłoża Dubosa, zawierającego $C^{14}H_3CO_2Na$. Streptomycin sensitive and re-

sistant *BCG* bacilli. Observations on C^{14} uptake in the radioactive Dubos medium, containing $C^{14}H_3CO_2Na$. *Gruźlica*, 1957, 25 (11) : 859—861. Tabela — 1, rysunek — 1. J. polski (Summary English). C. G.

73. Kuźniar K.: Wpływ stosowania rozmaitego rodzaju ściółek w sadach na drobnoustroje glebowe. The influence of various mulches applied in orchards on soil microorganisms. *Roczn. Nauk Roln.*, 1957, 76-A (2) : 335—367. Tabel — 12, rysunków — 7. J. polski (Summary English, Russian). Oryg. I.
74. Kwapiński J.: Budowa chemiczna i antygenowa maczugowców. *Acta Microbiol. Polon.*, 1957, 6 (2) : 133—169. Tabel — 12. J. polski. Przegl. B.
75. Kwapiński J. and Merkel M.: Investigations into the chemical and antigenic structure of the genus *Streptomyces*. I. The chemical structure of *Streptomyces griseus*. *Bull. Acad. Polon Sci. Ser. Biol.*, 1957, 5 (10) : 335—340. Tabel — 6, fotografii — 3. J. (English). B.
Kwiek S. — patrz Rzucidło L. poz. 122.
76. Lachmajer J. i współpracownicy: Spontaneous infection of ticks *Ixodes ricinus* with the virus of tick encephalitis in the coast-district. Samoistne zakażenie kleszczy *Ixodes ricinus* wirusem kleszczowego zapalenia mózgu na wybrzeżu. *Biul. Inst. Med. Morsk.*, Gdańsk, 1957, 8 (3/4) : 173—182. Fig. 3. English. (Streszczenie polskie). H.
77. Lachowicz T. i Romanowski T.: Ocena różnych kryteriów chorobotwórczości gronkowców wyosobnionych z przypadków nosicielstwa w badaniach *in vitro*. Evaluation of various criteria of pathogenicity of staphylococci isolated from carriers in investigations *in vitro*. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9 (4) : 339—349. Tabel — 8. J. polski (Summary English). O.
Lalko J. — patrz Chwistecka J. poz. 22.
Lichtensztejn A. — patrz Rzucidło L. poz. 122.
78. Lipa J.: Pierwotniaki (*Protozoa*) i ich rola w procesach glebowych. The role of *Protozoa* in soil processes. *Post. Nauk Roln.*, 1957, 4 (6) : 15—28. Tabel — 4, poz. bibliogr. 38. J. polski. Przegl. I.
Lipiński W. — patrz Jaskólski H. poz. 49.
Lubiński O. — patrz Woźnicka W. poz. 142.
79. Łabendziński S.: O niektórych metodach fermentacji drożdżowej stosowanych w zachodnio-europejskim przemyśle drożdżowym. *Przem. Ferment.*, Warszawa, 1957, 1 (5) : 152—154. Tabela — 1. J. polski. Przegl. L.
80. Łabendziński S.: Wpływ gęstości brzeczki drożdżowej na szybkość rozmnażania dzikich drożdży w procesie długotrwałej fermentacji drożdży piekarnianych. *Przem. Ferment.*, Warszawa, 1957, 1 (4) : 117—118. J. polski. L.
81. Łapiński A. i Witkowska B.: Rzadko spotykane typy pałeczek *Salmonella* wyizolowane na terenie województwa gdańskiego w latach 1955/56. Rare types of *Salmonella* isolated in the province of Gdańsk in 1955/56. *Przegl. Epidemiol.*, 1957, 3 : 221—230. J. polski (Summary English). F.
82. Łapiński W. i Witkowska N.: Nowy typ *Salmonella* wyizolowany na terenie województwa gdańskiego. A new *Salmonella* type isolated in Gdańsk Province. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9 (3) : 259—260. J. polski (Summary English). F.
83. Machnicki S.: Stosowanie lupuliny w leczeniu zakażenia rzęsistkiem pochwowym. *Ginekol. Polska*, 1957, 28 (5) : 555—558. J. polski. G.
84. Madecka-Borkowska I.: Zmiany biochemiczne u pałeczki okrężnicy pod wpływem inhibitora. (Komunikat). *Acta Physiol. Polon.*, 1957, 8 (3—3a) : : 432—433. J. polski. C.

85. Madecka-Borkowska I.: Studies on the variability of *E. coli*. Variants of *E. coli* induced by iodoacetate. *Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Biol.*, 1957, 5 (11) : 375—378. Rysunków — 7. English. C. E.
86. Majewska K.: Oporność na antybiotyki bakterii wyhodowanych z worka spojówkowego w przypadkach owrzodzenia rogówki. Resistance of the bacteria cultured from the cojunctival sac to antibiotics in the cases of ulceration of the cornea. *Pol. Tyg. Lek.*, 1957, 50 : 1935—1936. J. polski (Summary English). G.
Makarowska Z. — patrz Woźnicka W. poz. 142, 143.
87. Makower H. i współpracownicy: Badania nad wirusami Coxackie. Doniesienie I. Występowanie wirusów Coxackie na Dolnym i Górnym Śląsku. Studies on Coxackie Viruses. I. Incidence of Coxackie Viruses in Lower and Higher Silesia. *Arch. Immunol. Terap. Dośw.*, 1957, 5 : 167—196. Tabel — 6, fotografii — 9. J. polski (Summary English, Rezjume Ros.). H.
88. Makower H. i Skurska Z.: Badania nad wirusami Coxackie. Doniesienie III. Izolacja wirusa Coxackie z mózgu lisa. Studies on Coxackie Viruses. III. Isolation of Coxackie Virus from the brain of fox. *Arch. Immun. Terap. Dośw.*, 1957, 5 : 219—224. Tabele — 3. J. polski (Summary English, Rezjume Ros). H.
89. Makower H. i współpracownicy: Badania nad wirusami Coxackie. Doniesienie IV. Wirusy Coxackie w biegunkach niemowlęcych. Investigations on Coxackie viruses. IV. Coxackie viruses in infantile diarrhoea. *Pediatria Polska*, 1957, 6 : 659—669. Tabel — 6. J. polski (Summary English). H.
Makower H. — patrz Skurska Z. poz. 126.
Malińska E. — patrz Kaszubiak H. poz. 55.
Malanowski Z. — patrz Cabejszek I. poz. 20.
90. Marek K.: Immunologiczne właściwości krajowych szczepów pomoru rzekomego kur w porównaniu ze szczepem Hertfordshire. Immunological properties of strains of Newcastle disease virus isolated from natural outbreaks in comparison with the Hertfordshire strain. *Roczn. Nauk Roln.*, 1957, 68-E (1) : 25—33. Tabel 4. J. polski (Summary English, Rezjume Ros.). H.
91. Meisel H. i Rymkiewicz D.: Antygenowe właściwości zarodników tężcowych uwolnionych działaniem ługu lub enzymów od serologicznie czynnych składników komórek wegetatywnych. Antigenic properties of *Clostridium tetani* spores devoid of serologicaly active components of vegetative cells by treatment with alkali or enzymes. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9 (4) : 375—386. Tabele — 3. J. polski (Summary English). B.
92. Meisel H. and Rymkiewicz D.: Antigenics properties of spores of *Clostridium tetani* made free of the serologically active components of vegetative cells by treatment with lysozyme, desoxyribonuclease and tripsin. *Bull. Acad. Polon. Sci., Ser Biol.*, 1957, 5 (10) : 331—334. Tabele — 3. English. B.
93. Merkel M.: The chemical and antigenic structure of *Trichophyton gypseum*. *Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Biol.*, 1957, 5 (10) : 341—345. Tabele — 4. English. B.
Merkel M. — patrz Kwapiński J. poz. 75.
94. Metzger M.: Biochemiczne i serologiczne własności pałeczek *Shigella Boydii*. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1957, 11 (3) : 283—305. Tabel — 16. J. polski. B.
95. Metzger M.: Ciepłochwiejne antygeny pałeczek jelitowych. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1957, 11 (4) : 361—386. Tabel — 9, rysunki — 2. J. polski. Przegl. B.
96. Metzger M. i Rudnicka I.: Badania nad budową antygenową pozbawionych antygenu typowego pałeczek *S. flexneri*. Studies on the antigenic structure of *S. flexneri* strains lacking type antigen. *Arch. Immunol. Terap. Dośw.*,

1957, 5 : 77—91. Tabel — 10. J. polski (Summary English, Russian). B.

Metzger M. — patrz Ślopek S. poz. 134.

97. Michalska I.: Flora grzybowa i bakteryjna jako czynnik niszczący wełnę owczą. Fungi and bacteria as a factor in decaying of wool-fibers. *Acta Microbiol. Polon.*, 1957, 6 (2) : 171—188. Tabel — 2, fotografii — 19. J. polski (Summary English). Oryg. M.

98. Michalski T. i współpracownicy: Antybakteryjne własności promieniowców. Doniesienie I. Izolacja promieniowców. Antibacterial properties of *Streptomyces*. I. Isolation of *Streptomyces*. *Arch. Immunol. Terap. Dośw.*, 1957, 5 : 225—230. Tabel — 2, fotografia — 1. J. polski (Summary English, Russian). G.

99. Mikiewicz B. i Wald S.: Oczyszczanie i koncentracja anatoksyny błoniczej. Cz. II. Purification and concentration of diphteria toxoid. Part II. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9 (3) : 230—235. Tabele — 2, rysunek — 1. J. polski (Summary English). O.

100. Miętowicz L.: Inhibitory wirusa grypy w normalnych surowicach zwierząt. The inhibitors of virus influenzae in the animal normal sera. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9 (4) : 403—417. Tabel — 6. J. polski (Summary English). H.

Mikucki J. — patrz Kowalska D. poz. 62.

Mikulaszek E. — patrz Brill J. poz. 14.

101. Mordarski M. i współpracownicy: Antybakteryjne własności promieniowców. Doniesienie II. Badania antagonistycznego działania promieniowców na wzrost mikroorganizmów. Antibacterial properties of *Streptomyces*. II. Studies on the antagonistic action of *Streptomyces* on the growth of other microorganisms. *Arch. Immunol. Terap. Dośw.*, 1957, 5 : 231—248. Tabel — 4, fotografii — 4. J. polski (Summary English, Russian). G.

102. Mordarski M. i współpracownicy: Antybakteryjne własności promieniowców. Doniesienie III. Wytwarzanie antybiotyku przez szczep *Streptomyces 229/2702*. Antibacterial properties of *Streptomyces*. III. Production of antibiotic by the *Streptomyces* strain *229/2702*. *Arch. Immunol. Terap. Dośw.*, 1957, 5 : 249—261. Tabele — 2, rysunki — 2, fotografia — 1. J. polski (Summary English, Russian). G.

Mordarski M. — patrz Kowalska-Mordarska H. poz. 63.

Mordarski M. — patrz Michalski T. poz. 98.

103. Mulczyk M. i Kucharewicz A.: Badania nad fagami dla pałeczek czerwonkowych. Studies on phages for *Shigella* bacilli. *Arch. Immunol. Terap. Dośw.*, 1957, 5 : 109—127. Tabel — 6, rysunków — 2, fotografii — 4. J. polski (Summary English, Russian). H.

104. Myśkow W.: Wpływ siewu mieszanego koniczyny i tymotki na mikroflorę ich rizosfery. The influence of a mixed culture of clover and timothy on the microflora of their rhizosphere. *Roczn. Nauk Roln.*, 1957, 77-A (2) : 275—296. Tabel — 11. J. Polski. (Summary English, Russian). Oryg. I.

Neciuk-Szczerbiński Z. — patrz Hornung S. poz. 44.

Niemczyk H. — patrz Woźnicka W. poz. 142, 143.

Nowak E. — patrz Sienkiewicz Z. poz. 125.

105. Nowakowska A.: Autoliza drożdży browarniczych i piekarnianych. Autolysis of brewery and backer yeasts. *Acta Microbiol. Polon.* 1957, 6 (3) : 293—302. Tabele — 4, rysunków — 3. J. polski (Summary English). L. O.

106. Nowakowska A.: Oporność autolizatów drożdżowych na zakażenia mikrobiologiczne. The inhibition of contaminating microorganisms by yeast autolysate. *Acta Microbiol. Polon.*, 1957, 6 (3) : 303—307. Tabel — 2. J. polski (Summary English). L.

Nowakowska A. — patrz Jakubowska J. poz. 47.
Oberman H. — patrz Jakubowska J. poz. 47.
Obojska K. — patrz Gąsior E. poz. 36.
Obst B. — patrz Ślopek S. poz. 134.
Okolska W. — patrz Dyner E. poz. 31.

107. Opara Z.: Wybrane zagadnienia z genetyki bakterii. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1957, 11 : 125—152. Tabele — 2, rysunków — 8, cyt. poz. 57. J. polski. Przegl. E.
Opuszyńska H. — patrz Pezacki W. poz. 115.

108. Orłowa T. i Jelińska M. K.: Rozpuszczalność antygenu powierzchniowego szczepów *Alcalescens*. I. Badania za pomocą hemaglutynacji biernej i uodparniania zwierząt. Solubility of the surface antigen of *Alcalescens*. I. Strains investigated by means of passive hemaglutination test and immunization of experimental animals. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9 (3) : 245—252. Tabel — 4, rysunków — 3. J. polski (Summary English). B.
Osińska J. — patrz Brzeziński S. poz. 19.

109. Ostrowski W. i Krawczyk A.: Biochemia samożywnych bakterii siarkowych. IV. Badania nad przemianą siarki w *Thiobacillus thioparus* przy zastosowaniu ^{35}S. Biochemistry of autotrophic sulphur bacteria. IV. Investigations into the sulphur metabolism in *Thiobacillus thioparus*, with the aid of ^{35}S. *Acta Biochim. Polon.*, 1957, 4 (4) : 249—265. Rysunków — 12. J. polski (Summary English). C.
Paklerska-Pobratym H. — patrz Kostrzewski W. poz. 59.

110. Paluch J. i Kluczycki K.: Prof. Dr inż. Adolf Joszt. *Acta Microbiol. Polon.*, 1957, 6 (2) : 103—106. Fotografia — 1.

111. Paluch J. i współpracownicy: Z badań nad działaniem filtrów pośpiesznych w Kozłowej Górze. *Gaz, Woda, i Techn. Sanit.*, Warszawa, 1957, 31 (7) : 250—256. Tabel — 4, rysunków — 5. J. polski. J.
Parnas J. — patrz Chodkowski A. poz. 21.
Paryski E. — patrz Hornung S. poz. 44.
Pasquier J. — patrz Kuryłowicz W. poz. 71, 72.

112. Paszkiewicz A.: Antybiotyk przeciwbakteryjny, wytwarzany przez szczep *Streptomyces Sp.* 109/I. Antibacterial antibiotic produced by the *Streptomyces sp.* 109/I strain. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 1957, 9 (4) : 451—462. Tabel — 5, rysunków — 7. J. polski (Summary English). G.
Paszkiewicz A. — patrz Woźnicka W. poz. 142.

113. Pawełkiewicz J. i Zodrow K.: Wytwarzanie kobalamin przez *Corynebacterium diphteriae*. The synthesis of cobalamins by *Corynebacterium diphteriae*. *Acta Microbiol. Polon.*, 1957, 6 (3) : 219—231. Tabel — 5, rysunków — 2. J. polski (Summary English). Oryg. C.

114. Pawełkiewicz J. i Zodrow K.: Badania nad biosyntezą związków kobalaminowych. II. Mechanizm powstawania kobalamin u *Corynebacterium diphteriae*. Studies on the biosynthesis of cobalamin compounds. II. Mechanism of formation of cobalamins by *Corynebacterium diphteriae*. *Acta Biochim. Polon.* 1957, 4 (3) : 203—210. Tabela — 1. J. polski (Summary English). C.

115. Pezacki W. i współpracownicy: Wpływ temperatury i wilgotności powietrza dojrzewalni na rozwój mikroflory powierzchniowej salami węgierskiego. Influence of temperature and humidity of the air in the ripening chamber on the growth of the surface flora on hungarian salame. *Med. Wet.*, 1957, 13 (9) : 526—532. Tabela — 1, rysunek — 1, fotografii — 11. J. polski (Summary English, Russian). K.

Pędziwilk K. — patrz Duda J. poz. 27.
Pędziwilk K. — patrz Kaszubiak H. poz. 55.

116. Pichula K.: Wpływ promieni ultrafioletowych na prątki gruźlicy. Doniesienie I. Odkażanie promieniami ultrafioletowymi skrawków skóry, dermatoidu i plastyku zakażonych prątkami gruźlicy. Influence of ultraviolet rays on tubercle bacilli. Report I. Ultraviolet ray desinfection of strips of leather, dermatoid, and plastics infected with tubercle bacilli. *Gruźlica*, 1957, 25 (7) : : 555—558. Rysunek — 1. J. polski (Summary English). G.

Pieniążek J. — patrz Żebrowski T. poz. 149.
Polończyk M. — patrz Hornung S. poz. 44.

117. Porwit-Bóbr Z.: Hodowla tkankowa *in vitro* jako metoda badawcza w wirusologii. *Wszechświat*, 1957, (1) : 21—22. Fotografie — 2. J. polski. Przegl. popul. H.

118. Pręgowski W. i współpracownicy: Wyniki kliniczne leczenia gruźlicy płuc HKIN, skojarzonym z T_{40}. — Częstość występowania hydrazydo-odporności prątków. Clinical results of the treatment of pulmonary tuberculosis with combination IHN and T_{40}. — Frequency of appearance of INH resistance of the tubercle bacilii. *Gruźlica*, 1957, 25 (9) : 709—714. Tabela — 1. J. polski (Summary English). G.

Przybyła A. — patrz Wojciechowski E. poz. 141.
Rapf T. — patrz Hornung S. poz. 44.
Rolicka M. — patrz Zabłocki B. poz. 145.
Rolicka M. — patrz Szydłowski S. poz. 136.
Romanowski T. — patrz Lachowicz T. poz. 77.
Rostkowska J. — patrz Kadłubowski R. poz. 51.
Ruczaj Z. — patrz Woźnicka W. poz. 142.
Ruczkowska J. — patrz Ślopek S. poz. 135.
Rudnicka I. — patrz Ślopek S. poz. 134.

119. Rybicka I.: Wpływ penicyliny na wytwarzanie toksyny przez maczugowca błonicy. (szczep PW_8). The influence of penicillin on diphteria toxin production by PW_8 strain. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9 (3) : 219—226. Tabele — 2. J. polski (Summary English). C. G.

Rymkiewicz D. — patrz Meisel H. poz. 91, 92.
Rządkowska H. — patrz Bodalski T. poz. 8, 9.

120. Rzędowska H.: Badania nad porównaniem i ustaleniem metod kontroli mikrobiologicznej w przemyśle owocowo-warzywnym. *Biul. Inst. Przem. Spoż.* (Warszawa), 1957, 7 (5/6) : 449. J. polski. K.

121. Rzucidło L. i współpracownicy: Chemical structure and biological properties of the cellular residue of *Salmonella typhi*. *Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Biol.*, 1957, 5 (12) : 425—429. English B.

122. Rzucidło L. i współpracownicy: Influence of various extraction methods on the biological properties of *Mycobacterium tuberculosis*. *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Biol.* 1957, 5 (12) : 419—424. Tobele — 2. (Summary English). B.

Sabiniewicz S. — patrz Brzeziński S. poz. 19.
Sadowska M. — patrz Cabejszek I. poz. 20.

123. Sagan Z:. Poszukiwanie antygenów *M* i *N* wśród bakterii. Studies on the presence of *M* and *N* antigens in bacteria. *Arch. Immun. Terap. Dośw.*, 1957, 5 : 401—404. J. polski (Summary English, Russian). B.

124. Sakławska-Szymonowa O.: Transaminacja aminokwasów zasadowych u *Mycobacterium phlei* (Komunikat). *Acta Physiol. Polon.*, 1957, 8 (3—3a) : 519—520. J. polski. C.

Severin M. — patrz Wierzchowski J. poz. 140.
Shugar D. — patrz Baranowska J. poz. 5.
Siedlecka M. — patrz Ślopek S. poz. 135.

125. Sienkiewicz Z. i Nowak E.: Wyrób sera typu roquefort z mleka owczego. *Prace Inst. Przem. Mlecz.*, (Warszawa), 1957, 55 (1) : 27—53. Tabel — 13, rysunków — 4. J. polski. K.

Sikorska-Mroziewicz F. — patrz Makower H. poz. 89.
Skurska Z. — patrz Makower H. poz. 87, 88, 89.
Skurska Z. — patrz Mordarski M. poz. 102.

126. Skurska Z. i współpracownicy: Badania nad wirusami *Coxackie*. II. Wirusy *Coxackie* w chorobie bornholmskiej. Studies on *Coxackie* viruses. II. *Coxackie* viruses in Bornholm disease. *Arch. Immunol. Terap. Dośw.*, 1957, 5 : 197—218. Tabel — 12, rysunki — 2. J. polski. (Summary English, Russian). H.

127. Słomska J.: Posiewy krwi w podostrym bakteryjnym zapaleniu wsierdzia. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1957, 11 (3) : 347—348. Tabela — 1. J. polski. O.

128. Słomska J. i Smogórowa W.: Żółtko jaja kurzego jako podłoże dla paciorkowców zieleniejących. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1957. 11 (3) : 349—350. Tabela — 1. J. polski. O.

Smogórowa W. — patrz Słomska J. poz. 128.
Sobieszczański J. — patrz Dieżyc J. poz. 29.
Sobieszczański J. — patrz Balicka N. poz. 2, 3.
Sobiszewski W. — patrz Woźnicka W. poz. 142.

129. Stanecki J. i współpracownicy: Inaktywacja bakteriostatycznego działania aureomycyny przez substancje będące produktem metabolizmu bakteryjnego. Inactivation of aureomycin bacteriostatic action by a product of bacterial metabolism. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9 (4) : 437—440. J. polski (Summary English). G.

Stanisławska J. — patrz Cabejszek I. poz. 20.

130. Stankiewicz H.: Trwałość konserw mięsnych podrobowych w opakowaniu szklanym. *Prace Inst. Przem. Mięsn.* (Warszawa), 1957, 4 : 237—247. Tabele — 2. J. polski. Oryg. K.

Styblo K. — patrz Křivinka R. poz. 64.

131. Ślopek S. i Dąbrowski L.: Szczep *E. coli* (*5444-80*) identyczny antygenowo z pałeczkami *S. flexneri 3. E. coli* strain (*5444-80*) having identical antigens with *S. flexneri 3. Arch. Immunol. Terapii Dośw.*, 1957, 5 : 93—100. Tabel — 5. J. polski (Summary English, Russian). B.

132. Ślopek S. i Dąbrowski L.: Szczep *E.coli* (*3558-52*) identyczny antygenowo z pałeczkami *S. flexneri 5* (*P 119X+*). *E. coli* strain (*3558-52*) having identical antigens with *S. flexneri 5* (*P 119X+*). *Arch. Immunol. Terapii Dośw.*, 1957, 5 : 101—107. Tabel — 5. J. polski (Summary English, Russian). B.

133. Ślopek S. i Dąbrowski L.: Charakterystyka nowych antygenów występujących u pałeczek jelitowych. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1957, 11 (4) : 488—489. Tabela — 1. J. polski. B.

134. Ślopek S. i współpracownicy: Serologiczne warianty typu *1, 2, 3*, i *4 S. flexneri*. Serological varietes of *S. flexneri types 1, 2, 3* and *4. Arch. Immunol. Terap. Dośw.*, 1957, 5 : 59—76. Tabel — 16. J. polski (Summary English, Russian). B.

135. Ślopek S. i współpracownicy: Wrażliwość pałeczek *Shigella* i *Alcalescens-Dispar* na sulfonamidy (sulfatiazol, sulfaguanidyna) i antybiotyki (aureomycyna, chloromycetyna, streptomycyna). Sensitivity of *Shigella* and *Alcalescens-Dispar* strains to sulphonamides (sulfathiazole, sulfaguanidine) and

antibiotics (aureomycin, chloromycetin, streptomycin). *Arch. Immunol. Terapii Dośw.*, 1957, 5 : 271—285. Tabel — 9. J. polski (Summary English, Russian). G.

Szczepaniak S. — patrz Krzeczkowska I. poz. 67.

Szczerbiński B. — patrz Heindrich Z. poz. 42.

Szczęśniak T. — patrz Woźnicka W. poz. 142, 143.

Szeniawski P. — patrz Woźnicka W. poz. 142.

Sznura-Wieczorek J. — patrz Mordarski M. poz. 102.

Szulicka J. — patrz Paluch J. poz. 111.

136. Szydłowski S. i współpracownicy: Otrzymywanie oczyszczonych preparatów kwasu hialuronowego do miareczkowania enzymu hialuronidazy. The obtaining of purifield hyaluronic acid for the purpose of titration of the enzyme — hyaluronidase. *Acta Microbiol. Polon.*, 1957, 6 (3) : 211—218. Tabela — 1, rysunków 4. J. polski (Summary English). O.

137. Szyliga J.: Mikroflora mąki. *Przegl. Zboż.-Młyn.* (Warszawa), 1957, 8 : 12—13. Rysunek — 1. J. polski. K.

Szymkiewicz A. — patrz Paluch J. poz. 111.

138. Szymona M.: Utilisation of inorganic polyphosphates for phosphorylation of glucose in *Mycobacterium phlei. Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Biol.*, 1957, 5 (11) : 379—381. Tabela — 1, fotografie — 3. English. C.

Terlecka J. — patrz Woźnicka W. poz. 142, 143.

Truszczyński — patrz Brill J. poz. 14.

139. Tysarowski W.: Udział grup *SH* w oddychaniu prątków saprofitycznych i zjadliwych. (Komunikat). *Acta Physiol. Polon.*, 1957, 8 (3—3a) : 557. J. polski C.

Wald S — patrz Mikiewicz B. poz. 99.

Waroński W. — patrz Elbowicz Z. poz. 32.

Wegner Z. — patrz Lachmajer J. poz. 76.

Wiaterowa A. — patrz Bagdasarian G. poz. 4.

140. Wierzchowski J. i współpracownicy: Badanie i ocena sanitarno-higieniczna piwa butelkowego. Examination and evaluation of bottled beer from the point of view of sanitation and hygiene. *Rocz. PZH*, (Warszawa), 1957, 6 : 549—556. Tabele — 3, rysunek — 1. J. polski (Summary English, Russian). L.

Wilk E. — patrz Woźnicka W. poz. 142, 143.

Witkowska B. — patrz Łapiński A. poz. 81, 82.

Wituch K. — patrz Woźnicka W. poz. 142.

141. Wojciechowski E. i Przybyła A.: Właściwości antygenowe szczepów *R. burneti* wyosobnionych w pierwszej epidemii gorączki *Q* w Polsce. Antigenic properties of *R. burneti* isolated from first *Q* epidemic in Poland. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9 (3) : 281—287. Tabele — 3. J. polski (Summary English). B.

142. Woźnicka W. i współpracownicy: Alomycyna. Nowy antybiotyk przeciwgrzybowy. Alomycin, a new antifungal antibiotic. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9 (4) : 441—450. Tabele — 3, rysunki 2. J. polski (Summary English). G.

143. Woźnicka W. i współpracownicy: Poszukiwanie antybiotyków przeciwgrzybowych. II. Nowy antybiotyk — Alomycyna. Attempts to find new antifungal antibiotics. II. Alomycin, a new antibiotic. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9 (3) 293 : 308. Tabel — 9, rysunki — 4. J. polski (Summary English). G.

144. Wysoczyńska H. i Kawecki Z.: Inaktywowany wirus końskiego amerykańskiego zapalenia mózgu i rdzenia jako antygen do wiązania dopełniacza. The inactivated virus of western equine encephalomyelitis as an antigen

of complement fixation. *Bul. Med. Morsk.*, (Gdańsk). 1957, 8 (3-4) : 183—187. Tabela — 1. J. polski (Summary English). H.

Zabłocki B. — patrz Szydłowski S. poz. 136.

145. Zabłocki B. i współpracownicy: Porównawcze badania nad wytwarzaniem koagulazy wolnej i związanej przez gronkowce. Comparative investigations on production of coagulase, free and fixed, by staphylococci. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1957, 9 (4) : 331—338. Tabel — 8. J. polski (Summary English). C.

Zawadzki Z. — patrz Hejłasz Z. poz. 43.

146. Ziemińska S.: Porównawcze badania nad występowaniem bakterii grupy *coli* i enterokoków w wodzie powierzchniowej. Comparative studies on the appearence of *coli*-form bacteria and *enterococci* in surface water. *Roczn. PZH* (Warszawa), 1957, 3 : 277—288. Tabele — 4, rysunki — 4. J. polski (Summary English, Russian). J.

Zodrow K. — patrz Duda J. poz. 27.

Zodrow K. — Pawełkiewicz J. poz. 113, 114.

147. Żebrowski L.: Badania nad zmiennością chorobotwórczości wirusa rzekomego pomoru drobiu (Newcastle). II. Wpływ metabolizmu zarodków kurzych na zmienność chorobotwórczości. The influence of chick-embryo metabolism on the virulence of Newcastle disease virus. *Roczn. Nauk Roln.*, 1957, 68-E (1) : : 39—47. Tabele — 3. J. polski (Summary English, Russian). H.

148. Żebrowski T.: Optymalny okres obserwacji posiewów rozpoznawczych na obecność prątków kwasoopornych na pożywce Petragnaniego z asparaginą. The optimum observation time of diagnostic cultures as to the presence of acidoresistant bacilli on the Petragnani's medium with asparagine (analysis of 4000 tests). *Pol. Tyg. Lek.*, 1957, 41 : 1575—1579. Tabele — 4. J. polski (Summary English). O.

149. Żebrowski T. i współpracownicy: Wyniki wielokrotnego badania oporności prątków gruźliczych na streptomycynę i izoniacyd. Results of repeated tests of the tubercle bacilli resistance to streptomycine and their practical significance. *Pol. Tyg. Lek.*, 1957, 33 : 1269—1273. Tabel — 5. J. polski (Summary English). G.

II. INDEX RZECZOWY — SUBJECT INDEX

A. Morfologia i cytologia — Morphology and cytology

Baranowska i Shugar — 5
Kasperowicz — 54

B. Budowa antygenowa, skład chemiczny — Antigenic and chemical structure

Brill i Mikulaszek — 14
Kowalska i Mikucki — 62
Kwapiński — 74
Kwapiński i Merkiel — 75
Meisel i Rymkiewicz — 91, 92
Merkel — 93
Metzger — 94, 95
Metzger i Rudnicka — 96
Orłowa i Jelińska — 108
Rzucidło i współpracownicy — 121, 122
Sagan — 123
Ślopek i Dąbrowski — 131, 132, 133
Ślopek i współpracownicy — 134
Wojciechowski i Przybyła — 141

C. Metabolizm — Metabolism

Bagdasarian i współpracownicy — 4
Gąsior — 35
Gąsior i Obojska — 36
Hulanicka — 45
Iskierko — 46
Kasperowicz — 54
Kaszubiak i współpracownicy — 55
Kostrzeński i Paklewska-Pobratym — 59
Krzeczkowska i współpracownicy — 67
Kulejewska — 68
Kuryłowicz i Pasquier — 71, 72
Madecka-Borkowska — 84, 85
Ostrowski i Krawczyk — 109
Pawełkiewicz i Zodrow 113, 114
Rybicka — 119
Sakławska-Szymonowa — 124
Szymona — 138
Tysarowski — 139
Zabłocki — 145

D. Wzrost i rozmnażanie — Growth

E. Genetyka i zmienność — Genetics and variability

Kadłubowski i Rostkowska — 51
Kunicki-Goldfinger — 69
Madecka-Borkowska — 85
Opara — 107

F. Klasyfikacja, systematyka — Classification, systematics

Brill i Gołębiowski — 13
Buczowski — 15
Buczowska — 17
Chodkowski — 21
Łapiński i Witkowska — 81, 82

G. Antybioza, antybiotyki i środki przeciwbakteryjne
Antibiosis, antibiotics and bacteriostatic and bacteriocidal factors

Bagdasarian i współpracownicy — 4
Bodalski i współpracownicy — 8
Bodalski i Rządkowska — 9
Borowski i Konopka — 11
Borowski — 12
Duda i Kaszubiak — 26
Dunin-Horkawicz i współpracownicy — 28
Dzioba — 30
Geyer-Duszczyńska i Janota-Bassalik—37
Hejłasz i współpracownicy — 43
Hornung i współpracownicy — 44
Kadłubowski i Rostkowska — 51
Kasperowicz — 54
Kowalska-Mordarska i Mordarski — 63
Křivinka i Styblŏ — 64
Kryński i współpracownicy — 65
Kulejewska — 68
Kunicki-Goldfinger — 69
Kuryłowicz i Pasquier — 72
Machnicki — 83
Majewska — 86
Michalski i współpracownicy — 98
Mordarski i współpracownicy — 101, 102
Paszkiewicz — 112
Pichula — 116
Pręgowski — 118
Rybicka — 119
Stanecki — 129
Ślopek i współpracownicy — 135
Woźnicka i współpracownicy — 142, 143
Żebrowski i współpracownicy — 149

H. Wirusy i bakteriofagi — Viruses and bacteriophages

Bodalski i współpracownicy — 8
Berbeć i Bawolska — 7
Chwistecka i Lalko — 22
Kańtoch — 52, 53
Kerszman — 56
Lachmajer i współpracownicy — 76
Makower i Skurska — 87
Makower i współpracownicy — 88, 89
Marek — 90
Miętowicz — 100
Mulczyk i Kucharewicz — 103
Porwit-Bóbr — 117
Skurska i współpracownicy — 126
Wysoczyńska i Kawecki — 144
Żebrowski — 147

I. Mikrobiologia gleby, nawozów i roślin
Microbiology of soil, fertilizers and plants

Balicka i Sobieszczański — 2, 3
Duda i Kaszubiak — 26
Duda i współpracownicy — 27
Dzieżyc i Sobieszczański — 29
Hauke-Pacewiczowa — 41
Krzemieniewska — 66
Kuryłowicz i Kermenowa — 70
Kuźniar — 73
Lipa 78
Myśkow — 104

J. Mikrobiologia wody, ścieków i powietrza
Microbiology of water, sewage and air

Balicka i Sobieszczański — 2, 3
Buczowska — 16
Buczowska i Dąbrowska — 18
Cabejszek — 20
Damse i Kłosowska — 24
Dożańska — 25
Elbowicz i współpracownicy — 32
K. K. (Korzeniowski) — 50
Paluch i współpracownicy — 111
Ziemińska — 146

K. Mikrobiologia środków spożywczych i pasz — Microbiology of food

Brzeziński — 19
Chyliński i Czarnowski — 23
Falewiczowa — 33
Górzyńska — 38
Hattowska i Kalinowski — 40
Heindrich i Szczerbiński — 42
Hejłasz i współpracownicy — 43
Jankowska — 48
Kosewska i Górecka — 58
Pezacki i współpracownicy — 115
Rzędowska — 120
Sienkiewicz i Nowak — 125
Stankiewicz — 130
Szyliga — 137

L. Mikrobiologia przemysłu fermentacyjnego
Microbiology of fermentation industry

Elbowicz i współpracownicy — 32
Górzyńska — 39
Łabendziński — 79, 80
Nowakowska — 105, 106
Wierzchowski i współpracownicy — 140

M. Mikrobiologia innych przemysłów — Microbiology of other industries

Jakubowska i współpracownicy — 47
Michalska — 97

N. Fitopatologia — Phytopatology

Berbeć i Bawolska — 7
Borecki — 10
Kochman — 57
Kowalik — 61

O. Metody pracy laboratoryjnej — Laboratory techniques and methods

Anczykowski — 1
Barta — 6
Chwistecka i Lalko — 22
Dyner i Okolska — 31
Gaugusch i Kafel — 34
Gąsior i Obojska — 36
Jaskólski i współpracownicy — 49
Kośmiderski — 60
Lachowicz i Romanowski — 77
Mikiewicz i Wald — 99
Nowakowska — 105
Słomska — 127
Słomska i Smogórowa — 128
Szydłowski i współpracownicy — 136
Żebrowski — 148

Opracowali: K. Czerwińska, T. Hauke-Pacewiczowa, L. Kosewska, T. Lachowicz, M. Łagowska, J. Łukaszewicz, S. Rowiński, A. Sander-Tabaczyńska i M. Tabaczyński, pod redakcją W. Kunickiego-Goldfingera, przy współudziale E. Hohenberg.

KOMUNIKAT

Komitet Hydrobiologiczny PAN ogłasza konkurs na pracę naukową pt.:
„Mikrobiologia wód powierzchniowych ze szczególnym uwzględnieniem zastosowania metodyki ilościowej w badaniach hydrobiologicznych".

Badania mikrobiologiczne naturalnych wód powierzchniowych są dziedziną w polskiej limnologii szczególnie zaniedbaną. Brak ten szczególnie dotkliwie daje się odczuć w dziedzinach limnologii, zajmujących się zagadnieniami produkcji biologicznej zbiorników, bilansu energetycznego i obiegu substancji biogennych w wodach, biocenologii zbiorników wodnych, oraz w innych zagadnieniach, w których istotną rolę grają zależności między grupami ekologicznymi (producentów, reducentów i konsumentów). Badania hydromikrobiologiczne, poza ich podstawowym znaczeniem w ogólnej limnologii, odgrywają zasadniczą rolę w sanitarnej ocenie czystości wody i ocenie stopnia jej zanieczyszczenia; we wszelkich dziedzinach gospodarki komunalnej, przemysłowej i rybactwie.

Regulamin konkursu

1. Zadaniem konkursu jest skierowanie uwagi pracowników naukowych na zaniedbaną dziedzinę badań, jaką jest mikrobiologia wód oraz zachęcenie do prowadzenia prac badawczych w tym kierunku.
2. Warunki konkursu zostają ogłoszone w wydawnictwach PAN i czasopismach fachowych.
3. W konkursie mogą wziąć udział wszyscy pracownicy naukowi, obywatele polscy.
4. Zgłoszone prace mogą być wykonane indywidualnie lub zbiorowo.
5. Autorzy mogą zgłaszać dowolną ilość prac.
6. Do konkursu mogą być zgłoszone prace nie opublikowane lub opublikowane nie wcześniej niż w 1958 r.
7. Prace (opatrzone imieniem i nazwiskiem autora lub autorów) powinny być nadesłane na adres Komitetu Hydrobiologicznego PAN, Warszawa, ul. Pasteura 3, w nieprzekraczalnym terminie do dnia 30 kwietnia 1960 r. (decyduje data stempla pocztowego) w 3 egzemplarzach maszynopisu.
8. W pierwszej połowie września 1959 r. Komitet Hydrobiologiczny PAN w porozumieniu z Komitetem Mikrobiologicznym PAN ustali skład 5-osobowego Sądu Konkursowego. Do Sądu Konkursowego mogą wejść tylko osoby, które nie nadesłały prac na konkurs.
9. Decyzje Sądu Konkursowego zostaną opublikowane w czasopismach fachowych.
10. Rozstrzygnięcie konkursu nastąpi w terminie do dn. 30. września 1960 r.
11. W konkursie zostają ustalone następujące nagrody:
    1 nagroda pierwsza — 7000 zł,
    1 nagroda druga — 5000 zł,
    2 nagrody trzecie po — 3000 zł.

12. W zależności od wyników oceny prac nadesłanych na konkurs Sądowi Konkursowemu i Komitetowi przysługuje prawo:
    a) przyznania czterech równorzędnych nagród,
    b) zmniejszenia ilości i wysokości nagród,
    c) nieprzyznania żadnej nagrody.
13. Autorzy nagrodzonych prac zachowują prawo do honorariów autorskich w przypadku ogłoszenia prac drukiem.

Sekretarz Komitetu
Hydrobiologicznego PAN
(—) mgr Romuald Klekowski

Przewodniczący Komitetu
Hydrobiologicznego PAN
(—) prof. dr Mieczysław Bogucki

SPIS TREŚCI

Str.

R. Pakuła, W. Walczak, Z. Fluder i K. Zakrzewski: Warunki środowiskowe transformacji dwoinek zapalenia płuc 97

K. Zgirska-Wawrzkiewicz: Nowa postać włoskowca różycy świń . . 105

E. Strzelczyk: Wpływ różnych roślin uprawnych na liczebność azotobaktera i *Clostridium* w ich rizosferze 115

E. Malińska i Z. Pędziwilk: Badania nad wytwarzaniem i składem kobalamin u bakterii z rodzaju *Rhizobium* 125

B. Kaniuga i A. Blechert: Próby bilansu sacharozy w fermentacji dekstranowej prowadzonej przy pomocy szczepu *Leuconostoc mesenteroides „L"* 131

J. Janicki i J. Skupin. Charakterystyka składu chemicznego grzybni odpadkowej *Penicillium chrysogenum* 139

Z. Ilczuk: Zakażenia zacierów fermentacji acetonowo-butanolowej . . . 149

Bibliografia mikrobiologii polskiej za II półrocze 1957 r. 159

Komunikat 177

CONTENTS

Page

R. Pakuła, W. Walczak, Z. Fluder and K. Zakrzewski: The environmental conditions of transformation of pneumococci. The role of albumin 97

K. Zgirska-Wawrzkiewicz: A new form of *Erysipelothrix rhusiopathiae* 105

E. Strzelczyk: Influence of various crop plants on the development of azotobacter and *Clostridium* in their rhizosphere 115

E. Malińska and Z. Pędziwilk: Studies on synthesis and composition of cobalamins in *Rhizobium*. Part II 125

B. Kaniuga and A. Blechert: Saccharose balance in dextran fermentation by strain *L. Leuconostoc mesenteroides* 131

J. Janicki and J. Skupin: The chemical composition of the mycelium of *Penicillium chrysogenum* 139

Z. Ilczuk: Bacterial contamination in the acetone-butanol fermenting mashes 149

Bibliography of Nolish papers on general, agricultural and technical microbiology, covering period: 1 July—31 December 1957 159

Communication 177

Cena zł 25.—

Warunki prenumeraty

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

Cena w prenumeracie zł 100 rocznie, zł 50 półrocznie. Zamówienia i wpłaty przyjmują:

1. Przedsiębiorstwo Upowszechnienia Prasy i Książki „Ruch", Wrocław, ul. Oławska 10/11, konto PKO nr 8-6-13768.

2. Urzędy pocztowe.

Prenumerata ze zleceniem wysyłki za granicę — 40% drożej. Zamówienia dla zagranicy przyjmuje Przedsiębiorstwo Kolportażu Wydawnictw Zagranicznych „Ruch", Warszawa, ul. Wilcza 46, konto PKO nr 1-6-100024. Bieżące numery do nabycia w księgarniach naukowych „Domu Książki" i we Wzorcowni PWN, Warszawa, ul. Miodowa 10.

Informacji w sprawie sprzedaży egzemplarzy z poprzednich lat udziela Centrala Kolportażu „Ruch", Sprzedaż Prasy Zdeaktualizowanej, Warszawa, ul. Srebrna 12, oraz Wzorcownia PWN, Warszawa, ul. Miodowa 10.